

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par l'**Université de Montpellier**

Préparée au sein de l'école doctorale **SP-SA** :
« *Sciences des procédés – Sciences des aliments* »

Et de l'unité mixte de recherche **IATE** :
« *Ingénierie des Agro-polymères et
Technologies Émergentes* »

Spécialité :
Biochimie, chimie et technologies des aliments

Présentée par **Sébastien ROLERE**

**ÉTUDE DES INTERACTIONS A L'ORIGINE
DE LA STRUCTURE ASSOCIATIVE DU
CAOUTCHOUC NATUREL
ET DE LEURS INFLUENCES SUR LES
PROPRIÉTÉS RHÉOLOGIQUES.**

Soutenue le 22 octobre 2015, devant le jury composé de

Mme. Sophie LECOMTE, Directrice de recherche, CNRS
Mr. Jean-François TASSIN, Professeur, Université du Maine
Mr. Frédéric BONFILS, Chercheur, CIRAD
Mr. Hervé COTTET, Professeur, Université de Montpellier
Mr. Benoît LE ROSSIGNOL, Centre de recherche Hutchinson
Mr. Jérôme SAINTE-BEUVE, Chercheur, CIRAD

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur



Directeur de thèse : Mr. Frédéric BONFILS
Co-encadrant : Mr. Jérôme SAINTE-BEUVE

RÉSUMÉ

Le caoutchouc naturel (CN) est un élastomère produit à partir du latex d'*Hevea brasiliensis*. Ce matériau est constitué en moyenne de 94% (m/m) de poly(*cis*-1,4-isoprène) et de 6% (m/m) de composés non-isoprènes avec notamment des lipides (1,5-3,0%), des protéines (~ 2,0%) et des éléments minéraux (0,2%). Ces composés non-isoprènes seraient responsables de la structure associative ainsi que des propriétés remarquables du CN. Ce matériau présente une grande variabilité de ses propriétés de mise en œuvre, liée aux conditions agronomiques (saison, clones, système d'exploitation) et aux différents procédés de fabrication existants. Le projet CANAOPT, dans lequel s'inscrit cette thèse, vise à identifier et à quantifier les sources de variabilité, ainsi qu'à développer de nouveaux grades de CN à variabilité réduite et contrôlée pour les applications antivibratoires. Ces travaux de thèse visent à mieux comprendre l'origine du gel du CN et son influence sur les propriétés rhéologiques du matériau. Cette phase gel (ou gel total) est constituée d'une fraction insoluble en solvant organique appelée le macrogel, et d'une fraction de microagrégats dispersés dans la fraction soluble, appelée le microgel.

Le premier axe de recherche de cette thèse vise à identifier l'effet du gel sur les propriétés rhéologiques du CN. Dans ce but, des méthodes ont été développées afin de quantifier les différents taux de gels du CN, de caractériser la structure des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) et des microagrégats (SEC-MALS en mode TBABr), mais également de mesurer les propriétés rhéologiques en double cisaillement (DMTA). Une méthode permettant de caractériser rapidement le taux de composés non-isoprènes des échantillons par spectroscopie FT-IR a également été mise au point. Des corrélations ont d'abord été mises en évidence entre les masses molaires moyennes des macromolécules et les propriétés rhéologiques d'une sélection de 25 échantillons différents. Enfin, une corrélation a également été mise en évidence entre le taux de gel total et le paramètre K' décrit par le modèle de Perez. Ce paramètre est déterminé graphiquement par la représentation Cole-Cole.

En parallèle, ces travaux se sont portés sur une caractérisation physico-chimique du microgel et du macrogel du CN. Une méthodologie d'extraction du microgel a été mise en place, et a permis la caractérisation des microagrégats du CN. La composition, le degré de réticulation, et les propriétés rhéologiques des macrogels issus d'une sélection de 11 échantillons de CN ont également été étudiés. Il a été montré que le taux de protéines contenues dans le macrogel (5-51% m/m) est directement lié à son degré de réticulation et impacte ses propriétés rhéologiques, très supérieures à celles du CN brut et de la fraction soluble correspondants.

Mots-clés : Caoutchouc naturel, CN, *Hevea brasiliensis*, structure associative, variabilité, CANAOPT, gel, macrogel, microagrégats, microgel, propriétés rhéologiques.

ABSTRACT

Natural Rubber (NR) is an elastomer made from *Hevea brasiliensis* latex. It contains about 94% (w/w) of *cis*-1,4-polyisoprene and 6% (w/w) of non-isoprene compounds, such as lipids (1.5-3.0%), proteins (~ 2.0%) and minerals (0.2%). These non-isoprene compounds are assumed to be responsible for the associative structure and the outstanding properties of NR. However, substantial variability in NR properties is caused by diverse agronomic conditions (season, clones and tapping system) and by the different manufacturing processes. This PhD thesis is part of the French CANAOPT project, which aims to create new NR grades with reduced and controlled variability for antivibratory applications. This PhD work aims for a better understanding of the origin of the NR gel phase and its influence on rheological properties. The gel phase of NR (or total gel) is composed of a fraction that is insoluble in organic solvent (macrogel), and of microaggregates dispersed in the soluble fraction (microgel).

The first component of this PhD research set out to identify the impact of the gel phase on NR properties. To that end, characterization methods were developed in order to investigate the different gel contents, the structures of *cis*-1,4-polyisoprene chains and microaggregates (SEC-MALS in TBABr mode), and also rheological properties in double-shear solicitation (DMTA) of NR samples. The non-isoprene contents (lipids and proteins) were also investigated using a new characterization method in FT-IR spectroscopy, developed during this PhD work. Correlations between the average molar masses of the macromolecules and the rheological properties of 25 NR samples were highlighted. Finally, a correlation was found between the total gel content and a K' parameter, introduced by the Perez model and graphically determined by the Cole-Cole representation.

At the same time, physicochemical characterization of the microgel and the macrogel of NR samples was undertaken. First, a new method was developed in order to extract and study NR microaggregates. The composition, the degree of crosslinking and the rheological properties of macrogels extracted from 11 NR samples were also investigated. It was found that the protein content (5-51% w/w) of the macrogel was clearly correlated to its degree of crosslinking. The macrogel protein content also influenced its rheological properties, which were much greater than those of the corresponding NR and soluble fraction.

Keywords: Natural Rubber, NR, *Hevea brasiliensis*, associative structure, variability, CANAOPT, gel, macrogel, microaggregates, microgel, rheological properties.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été menés au sein du CIRAD (UMR IATE) dans le cadre du projet collaboratif CANAOPT, cofinancé par la Banque Publique d'Investissement (BPI France), le Fonds Européen de Développement Régional (FEDER), les conseils régionaux de Bourgogne et des Pays de la Loire, les départements du Loiret (CG45), de la Nièvre (CG58) et des Pyrénées-Atlantiques (CG64), et enfin l'Agglomération de Montargis Et rives du Loing (AME).

Je tiens tout d'abord à exprimer toute ma reconnaissance à mes deux encadrants, Mr. Frédéric Bonfils et à Mr. Jérôme Sainte-Beuve, tous deux chercheurs au CIRAD, pour m'avoir permis d'intégrer leur équipe et de travailler sur ce projet passionnant. Je vous remercie également pour votre disponibilité, et pour m'avoir conseillé et accompagné durant ces trois années, tout en me laissant les libertés dont j'avais besoin.

Ma gratitude va également à tous les membres du projet CANAOPT qui ont suivi de près ce travail de thèse durant les comités de pilotage bimestriels. Je remercie donc Mr. Benoît Le Rossignol, Directeur développement matériaux du Centre de recherche de la société Hutchinson, Mme Marie Mangavel et Mr. Thomas Cadet (CDR Hutchinson), Mme Françoise Alarcon-Lorca (FAL Polymères), Mme Françoise Granet et Mr. Jean-Luc Merceron (MFP Michelin), Mr. Maxime Charman (EMAC), Mme Isabelle Nogha (ex Metaldyne), Mr. Florian Démé (LRCCP) et Mr. Jean-François Pilard (Université du Maine). Leurs nombreux conseils ont été primordiaux dans l'avancement de ces recherches. Je remercie tout particulièrement Mme Marie Cartault et Mr. Christian Charette, de la société ANVIS, pour leur aide durant la phase de développement de la méthode de mesures des propriétés rhéologiques. Le module de collage des éprouvettes, prêté par ANVIS, a été d'une aide précieuse.

Je remercie sincèrement Mme Sophie Lecomte, directrice de recherche à l'institut de Chimie & Biologie des Membranes et des Nano-objets (CBMN), et Mr. Jean-François Tassin, Professeur à l'Université du Maine, pour avoir accepté d'être rapporteur de ces travaux de thèse. Je remercie également Mr. Hervé Cottet, Professeur à l'Université de Montpellier, et encore une fois Mr. Benoît Le Rossignol, pour avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse.

Je voudrais également exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce projet. Je remercie donc tout particulièrement Mr. Laurent Vaysse, chercheur au CIRAD, pour son aide et ses conseils sur la partie « lipides » de cette thèse. Merci

également à Mme Siriluck Liengprayoon (LBTNR, Kasetsart University) pour le travail qu'elle a réalisé sur les échantillons de caoutchouc naturel du projet. Je remercie Mme Céline Bottier, chercheuse au CIRAD expatriée en Thaïlande, pour ses essais concernant les extractions de protéines. Un grand merci à Mme Christine Char, notamment pour son aide en SEC-MALS et en ICP-MS. Merci également à Mr. Karim Chelbi, notamment pour les longues heures qu'il aura passé sur le mélangeur à cylindres durant l'élaboration des mélanges étalons utilisés en spectroscopie FT-IR.

Je remercie Mme Chantal Cazevieuille (CRIC, Montpellier) pour son aide en microscopie électronique en transmission. Merci également à Mme Stéphanie Carrillo (UMR SPO) pour m'avoir accompagné durant les mesures de DLS, et à Mr Denis Cassan (UMR IATE) pour son aide en rhéologie. Pour les dosages d'azote, je remercie l'unité « Analyses des eaux, sols et végétaux » (US49) du CIRAD, et tout particulièrement Mr. Gaël Sénécal. Je tiens également à remercier Mme Anne Bergeret et Mr. Jean-Marie Taulemesse, de l'Ecole des Mines d'Alès, pour avoir accepté de collaborer avec nous sur l'étude menée en MEB-EDX. Concernant les travaux menés en spectroscopie RMN durant mes séjours à l'Université du Maine, je remercie sincèrement Mme Monique Body et Mr. Jens Dittmer pour leur disponibilité et pour leur aide.

Je voudrais enfin remercier ma famille, et principalement mes parents, qui m'ont soutenu tout au long de mes études, et m'ont permis d'arriver jusqu'ici.

Et à toi, Pauline, merci pour tout. C'est aussi grâce à toi si j'en suis là aujourd'hui.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|------------|
| REMERCIEMENTS | iii |
| TABLE DES MATIERES | v |
| LISTE DES TABLEAUX..... | vii |
| LISTE DES FIGURES | xi |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE | 1 |
| SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 3 |
| 1. Généralités sur le caoutchouc naturel | 3 |
| 2. Structure du caoutchouc naturel | 6 |
| 3. Le gel du caoutchouc naturel | 15 |
| 4. Relations entre la structure du caoutchouc naturel et ses propriétés mécaniques et rhéologiques..... | 20 |
| MÉTHODOLOGIE DE LA RECHERCHE | 25 |
| MATÉRIEL ET MÉTHODES | 26 |
| 1. MATÉRIEL..... | 26 |
| 2. MÉTHODES | 28 |
| CHAPITRE 1..... | 42 |
| Développements méthodologiques..... | 42 |
| 1. Caractérisation de la composition du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR | 42 |
| 2. Caractérisation de la mésostructure du caoutchouc naturel | 63 |
| 3. Caractérisation des propriétés rhéologiques..... | 73 |

TABLE DES MATIERES (SUITE)

| | |
|---|-----|
| CHAPITRE 2 | 86 |
| Influence de la mésostructure des gommes de caoutchouc naturel sur leurs propriétés rhéologiques..... | 86 |
| 1. Influence des conditions expérimentales sur la mésostructure | 86 |
| 2. Etude de la mésostructure de gommes de caoutchouc naturel..... | 92 |
| 3. Influence de la mésostructure des gommes de caoutchouc naturel sur leurs propriétés rhéologiques | 99 |
| 4. Conclusions..... | 113 |
| CHAPITRE 3 | 115 |
| Caractérisation physico-chimique de la phase gel du caoutchouc naturel | 115 |
| 1. Caractérisation du microgel du caoutchouc naturel..... | 115 |
| 2. Caractérisation du macrogel du caoutchouc naturel..... | 122 |
| 3. Conclusions..... | 167 |
| CONCLUSION GÉNÉRALE | 169 |
| BIBLIOGRAPHIE | 172 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tableau 1. | Eléments minéraux présents dans le latex d' <i>Hevea brasiliensis</i> | 9 |
| Tableau 2. | Gommes de caoutchouc naturel fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT, et utilisées dans ces travaux de thèse. | 27 |
| Tableau 3. | Liste des produits chimiques utilisés. | 28 |
| Tableau 4. | Extraits lipidiques mesurés au LBTNR et au CIRAD pour cinq gommes de caoutchouc naturel du projet CANAOPT. | 34 |
| Tableau 5. | Spécificités du spectromètre FT-IR utilisé et détails des mesures. | 36 |
| Tableau 6. | Composition des mélanges étalons préparés à partir de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique..... | 37 |
| Tableau 7. | Attribution des bandes de vibration mesurées en spectroscopie FT-IR | 44 |
| Tableau 8. | Composition lipidique de quelques mélanges étalons préparés à partir de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique..... | 51 |
| Tableau 9. | Détails des trois méthodes de traitement des spectres étudiées, et coefficients de détermination des droites d'étalonnage associées..... | 53 |
| Tableau 10. | Concentrations en groupements fonctionnels esters et carboxyles calculées par spectroscopie FT-IR, et par chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait lipidique, pour une sélection de cinq gommes..... | 55 |
| Tableau 11. | Coefficients de détermination calculés entre les analyses FT-IR et les taux d'azote mesurés, pour chacune des méthodes de traitement des spectres infrarouges..... | 60 |
| Tableau 12. | Evolution de l'absorbance mesurée à 1630 cm ⁻¹ avec la teneur en azote, pour des gommes de caoutchouc naturel, et pour des mélanges étalons préparés à partir de polyisoprène synthétique..... | 62 |
| Tableau 13. | Proportions des différentes fractions en présence dans la gomme CA10CIP11, quantifiées par SEC-MALS en mode TBABr..... | 66 |
| Tableau 14. | Paramètres structuraux des différentes populations détectées par SEC-MALS après conditionnement des colonnes au TBABr, pour la fraction soluble filtrée à 1 µm de la gomme CA10CIP11..... | 67 |
| Tableau 15. | Mésostructure moyenne de l'échantillon CA10CIP11 (TSR10, GT1), pour des injections réalisées en SEC-MALS en mode TBABr, entre 0 et 35 h (A), et entre 12 et 35 h (B) après la fin du conditionnement des colonnes de SEC. | 70 |

LISTE DES TABLEAUX (SUITE)

| | | |
|--------------------|---|-----|
| Tableau 16. | Dispersion des mesures réalisées en DMTA, pour plusieurs géométries d'éprouvettes, lors de balayages en fréquence (1-100 Hz) à faible déformation (1%), et à 25°C. | 75 |
| Tableau 17. | Mésostructure des plaques P ₀ , notées A à D, préparées à partir de la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1) dans des conditions de laminage différentes. | 78 |
| Tableau 18. | Mésostructure d'une gomme de grade TSR10 fabriquée à partir de latex du clone GT1, mesurée par SEC-MALS sur des colonnes non conditionnées, après 7 jours de mise en solution dans des conditions de solvant et de température différentes..... | 90 |
| Tableau 19. | Taux de gels moyens mesurés par grade et par clone, pour les 25 gommes de caoutchouc naturel étudiées..... | 94 |
| Tableau 20. | Structure moyenne des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel _{<1μ}), par grade et par clone, pour les 25 gommes de caoutchouc naturel étudiées..... | 95 |
| Tableau 21. | Structure moyenne des pelotes statistiques, par grade et par clone, pour les 25 gommes de caoutchouc naturel étudiées. | 98 |
| Tableau 22. | Modules de conservation G' et coefficients d'amortissement tanδ à 0,01 Hz et 22 Hz mesurés en double cisaillement à 100°C et à faible déformation (ε = 2%, domaine linéaire), pour 25 gommes de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone. | 102 |
| Tableau 23. | Valeurs des modules de perte G'' à 0,01 Hz et 22 Hz, des modules de perte maximaux (G'' _{max}) et des fréquences correspondantes, mesurées en double cisaillement (100°C, ε = 2%), pour 25 gommes de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone. | 102 |
| Tableau 24. | Influence de la structure des chaînes macromoléculaires de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) sur les propriétés rhéologiques des gommes de caoutchouc naturel laminées. | 107 |
| Tableau 25. | Influence de la gamme de fréquences étudiées lors de mesures des propriétés rhéologiques, sur la valeur du paramètre K' calculée graphiquement à partir des courbes Cole-Cole..... | 111 |
| Tableau 26. | Valeurs du paramètre K', pour 25 gommes de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone. | 113 |

LISTE DES TABLEAUX (SUITE)

| | | |
|--------------------|--|-----|
| Tableau 27. | Paramètres structuraux des différentes populations détectées par SEC-MALS en mode TBABr, pour la fraction soluble filtrée à 1 µm de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1)..... | 116 |
| Tableau 28. | Diamètres (Ø) ou longueur (L) des particules observées par TEM dans la solution de Microgel _{<1µ} | 118 |
| Tableau 29. | Caractéristiques des particules observées par TEM dans la solution de Microgel _{<1µ} | 118 |
| Tableau 30. | Proportions relatives et diamètres hydrodynamiques (D _h) moyens des particules présentes dans la fraction soluble filtrée à 1 µm et dans la solution de Microgel _{<1µ} de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1), calculées à partir des distributions en nombre mesurées par DLS | 121 |
| Tableau 31. | Taux d'azote mesurés par la méthode Dumas, pour le macrogel de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) ayant subi différents lavages..... | 124 |
| Tableau 32. | Travaux de caractérisation réalisés sur les différentes fractions d'une sélection de onze gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT. | 129 |
| Tableau 33. | Taux d'azote des différentes fractions de onze échantillons de caoutchouc naturel..... | 130 |
| Tableau 34. | Extraits lipidiques des différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16). | 135 |
| Tableau 35. | Concentrations de quelques composés présents dans les extraits lipidiques des différentes fractions de deux échantillons de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriqués à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16). | 137 |
| Tableau 36. | Compositions minérales des différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16), étudiées par ICP-MS et MEB-EDX. | 140 |
| Tableau 37. | Concentrations normalisées des éléments minéraux dosés par ICP-MS dans les différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, respectivement fabriquées à partir de latex du clone RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16); et calculs des taux d'éléments minéraux éliminés lors des étapes de lavage du macrogel..... | 142 |

LISTE DES TABLEAUX (SUITE)

| | | |
|--------------------|---|-----|
| Tableau 38. | Composition de différentes zones de la surface des gommres brutes CA10THP03 (A) et CA10CIP16 (B) caractérisées par MEB-EDX. | 145 |
| Tableau 39. | Composition de différentes zones de la surface du macrogel et de la fraction soluble de la gomme CA10THP03 (A) caractérisées par MEB-EDX. | 147 |
| Tableau 40. | Attribution des signaux mesurés en spectroscopies RMN ¹ H et ¹³ C. | 151 |
| Tableau 41. | Intensités maximales normalisées obtenues par spectroscopie RMN pour la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) avant et après mise en forme..... | 154 |
| Tableau 42. | Résultats obtenus par spectroscopie RMN pour trois gommres de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT, ainsi que pour leur fraction soluble et leur macrogel respectifs. | 155 |
| Tableau 43. | Propriétés rhéologiques à 0,01 Hz et 22 Hz mesurées en double cisaillement, à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) pour les 11 macrogels étudiés..... | 161 |
| Tableau 44. | Evaluation du degré de réticulation des macrogels de onze gommres de caoutchouc naturel, à partir de mesures de taux de gonflement. | 163 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figure 1. | Procédés de fabrication des principaux grades de caoutchouc naturel | 4 |
| Figure 2. | Schéma général de fabrication d'articles en caoutchouc naturel..... | 5 |
| Figure 3. | Structure chimique des polyprénols d'origine naturelle..... | 9 |
| Figure 4. | Analyses structurales (RMN ¹³ C) de la fraction de faibles masses molaires du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) du caoutchouc naturel, et d'un polyprénol d'origine naturelle (Goldenrod) ^[13] | 10 |
| Figure 5. | Analyse structurale par RMN de la fraction de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) de faibles masses molaires d'un caoutchouc naturel déprotéiné ^[13] | 11 |
| Figure 6. | Structure de la macromolécule de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) du caoutchouc naturel, proposée par Tanaka <i>et al.</i> ^[13] | 11 |
| Figure 7. | Distribution des masses molaires des chaînes de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) pour cinq clones d' <i>Hevea brasiliensis</i> ^[55] | 13 |
| Figure 8. | Méthodes développées par le CIRAD, pour la quantification des différents taux de gels du caoutchouc naturel. | 16 |
| Figure 9. | Structure du macrogel physique du caoutchouc naturel, proposée par Tanaka <i>et al.</i> ^[13] | 18 |
| Figure 10. | Effet de la déprotéination et de la transestérification sur les propriétés mécaniques d'un caoutchouc naturel ^[13] | 22 |
| Figure 11. | Stratégie de recherche adoptée durant ces travaux de thèse..... | 25 |
| Figure 12. | Procédés de fabrication des grades TSR10, TSR10CV et TSR3CV..... | 26 |
| Figure 13. | Protocole de caractérisation de la mésostructure des gommes de caoutchouc naturel..... | 30 |
| Figure 14. | Ordre des injections réalisées en SEC-MALS en mode TBABr..... | 30 |
| Figure 15. | Eprouvette cylindrique permettant la mesure des propriétés rhéologiques des gommes de caoutchouc naturel, en double cisaillement sur DMTA..... | 38 |
| Figure 16. | Schéma du module de préparation des éprouvettes cylindriques, prêté par la société ANVIS..... | 39 |
| Figure 17. | Schéma de confection des éprouvettes de mesure des propriétés rhéologiques en double cisaillement par DMTA. | 40 |
| Figure 18. | Montage des éprouvettes cylindriques sur la Tritec 2000B..... | 40 |
| Figure 19. | Spectres infrarouges d'un caoutchouc naturel et d'un poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique (B : IR2200). | 45 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figure 20. | Déconvolution de la région $1800-1500\text{ cm}^{-1}$ des spectres infrarouges de gommés de caoutchouc naturel contenant des bandes esters et carboxyles très intenses..... | 46 |
| Figure 21. | Spectres infrarouges des gommés de caoutchouc naturel selon : le grade (A), le clone pour les échantillons de grade TSR10 et TSR10CV (B) ou TSR3CV (C). | 47 |
| Figure 22. | Evolution de l'aire des bandes de vibration des liaisons carbonyles des groupements fonctionnels esters et carboxyles, avec l'extrait lipidique total des gommés étudiées. | 49 |
| Figure 23. | Spectres infrarouges des mélanges étalons préparés par ajout de stéarate de méthyle (A) et d'acide stéarique (B) dans des gommés de caoutchouc naturel présentant initialement des bandes esters (A) et carboxyles (B) faibles. | 50 |
| Figure 24. | Spectres infrarouges des mélanges étalons préparés par ajout de stéarate de méthyle (A) et d'acide stéarique (B) dans un poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique (IR2200). Evolution de l'absorbance maximale de la bande carbonyle, après normalisation des spectres avec l'absorbance maximale de la bande à 834 cm^{-1} (monomère <i>cis</i> -1,4-isoprène), dans le cas d'un ajout de groupements fonctionnels esters (C) et carboxyles (D). | 50 |
| Figure 25. | Analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits lipidiques de mélanges étalons préparés à partir de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique. | 52 |
| Figure 26. | Spectres infrarouges des cinq gommés sélectionnées pour une caractérisation par CCM de leur extrait lipidique | 54 |
| Figure 27. | Analyses CCM des cinq gommés sélectionnées. | 56 |
| Figure 28. | Evolution des bandes de vibration des liaisons carbonyles durant l'extraction lipidique pour des gommés contenant des quantités initiales importantes de groupements fonctionnels carboxyles et esters. | 58 |
| Figure 29. | Spectres infrarouges de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) brute et délipidée. | 58 |
| Figure 30. | Spectres infrarouges ($1700-1490\text{ cm}^{-1}$) de gommés de caoutchouc naturel de grades différents..... | 60 |
| Figure 31. | Evolution de l'absorbance normalisée de la bande Amide I (1630 cm^{-1}) avec le taux d'azote des gommés, mesuré par la méthode Dumas. | 61 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figure 32. | Profil d'élution en diffusion de la lumière (LS) à 90° et des masses molaires, pour une solution de caoutchouc naturel à 0,1% m/v dans du THF stabilisé et filtrée à 1 µm, injectée sur les colonnes A non traitées, et sur les colonnes B traitées au TBABr respectivement 60 h et 168 h. | 63 |
| Figure 33. | Analyse SEC-MALS d'une solution de caoutchouc naturel après 168 h de conditionnement des colonnes B avec une solution de TBABr à 0,3% m/v dans du THF stabilisé. | 66 |
| Figure 34. | Evolution de la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques (A) et du taux de microagrégats de tailles inférieures à 1 µm (Microgel _{<1µ}) mesuré (B) lors d'injections répétées d'une même solution de caoutchouc naturel (CA10CIP11), en SEC-MALS en mode TBABr..... | 68 |
| Figure 35. | Evolution des masses molaires moyennes en poids (M_w) et des rayons de giration (R_g) mesurés pour les microagrégats (Microgel _{<1µ}) et les pelotes statistiques d'une même solution de caoutchouc naturel injectée de façon répétée en SEC-MALS en mode TBABr. | 69 |
| Figure 36. | Chromatogrammes obtenus en SEC-MALS en mode TBABr pour la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1) lors de trois séries d'injections différentes..... | 71 |
| Figure 37. | Masses molaires moyennes en nombre (a), rayons de giration (b) et taux de gels (c) mesurés par SEC-MALS en mode TBABr pour quatre gommes du projet CANAOPT lors de trois séries d'injections différentes..... | 72 |
| Figure 38. | Géométries étudiées lors des essais préliminaires réalisés en analyse thermomécanique dynamique (DMTA) : Traction-compression (A) ; Double cisaillement (B). | 75 |
| Figure 39. | Propriétés rhéologiques de deux gommes (CA10CVCIP04 et CA10CIP08) mesurées en double cisaillement ($f=1$ Hz, $\epsilon=1\%$, $T=25^\circ\text{C}$) sur des plaques mises en forme sous presse (200 bars) dans des conditions différentes. | 77 |
| Figure 40. | Préparation de plaques P_0 par laminage. | 78 |
| Figure 41. | Evolution des propriétés rhéologiques de la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1), avec la fréquence de sollicitation à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à température élevée ($T=100^\circ\text{C}$), pour les quatre conditions de laminage étudiées. | 80 |
| Figure 42. | Evolution des coefficients de variation obtenus sur les modules de cisaillement lors de balayages en fréquence (0,01-50 Hz) à faible déformation ($\epsilon=2\%$), pour des mesures réalisées à 25°C et à 100°C sur des éprouvettes issues de plaques préparées dans des conditions de laminage particulières. | 80 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Figure 43. | Influence de la solvation sur les propriétés rhéologiques de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1), mesurées à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à 25°C. | 82 |
| Figure 44. | Evolution des propriétés rhéologiques mesurées à 1 Hz, à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à 25°C, en fonction de l'épaisseur moyenne des pastilles utilisées lors du collage des éprouvettes cylindriques, pour les gommes CA10CIP02 (TSR10, GT1) et CA10CVCIP13 (TSR10CV, GT1). | 83 |
| Figure 45. | Coupes transversales (a) et reconstitutions en trois dimensions (b) d'une plaque laminée (1) et d'une pastille préparée à partir de plusieurs couches d'une même plaque (2), analysées par tomographie X. | 84 |
| Figure 46. | Influence du solvant et de la température sur les taux de gels mesurés après des temps de mise en solution différents, pour une gomme TSR10 fabriquée en RCI à partir de latex du clone GT1. | 88 |
| Figure 47. | Influence du solvant et de la température de mise en solution sur les masses molaires moyennes des macromolécules en solution, après des temps de mise en solution différents (Gomme TSR10 de RCI, clone GT1). | 89 |
| Figure 48. | Influence de la concentration des solutions de caoutchouc naturel (Gomme TSR10 de RCI, clone GT1) dans du THF stabilisé, sur les taux de gels mesurés après 7 jours à 30°C. | 91 |
| Figure 49. | Protocoles développés pour la caractérisation de la mésostructure (SEC-MALS en mode TBABr) et des propriétés rhéologiques (DMTA) d'échantillons de caoutchouc naturel mis en forme par laminage. | 93 |
| Figure 50. | Profils d'élution en diffusion de la lumière à 90° (LS, gauche) et en réfractométrie (RI, droite), et évolution des masses molaires en poids ($M_{w,i}$), mesurés par SEC-MALS en mode TBABr, pour des échantillons de grades différents fabriqués à partir de latex des clones GT1 (A) et PB235 (B). | 96 |
| Figure 51. | Profils d'élution en diffusion de la lumière à 90° (LS, gauche) et en réfractométrie (RI, droite), et évolution des masses molaires en poids ($M_{w,i}$), mesurés par SEC-MALS en mode TBABr, pour des échantillons de grades TSR3CV (A) et TSR10 (B) fabriqués à partir de latex de clones différents. | 97 |
| Figure 52. | Propriétés rhéologiques mesurées à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) de trois gommes de grades différents, fabriquées à partir de latex du clone PB235. | 101 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Figure 53. | Evolution des modules de conservation G' à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesurés à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés. | 104 |
| Figure 54. | Evolution du module de conservation G' à 0,01 Hz et à 22 Hz avec respectivement les masses molaires moyennes en poids M_w (gauche) et en nombre M_n (droite) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour des gommés TSR10 issues du latex de trois clones différents..... | 105 |
| Figure 55. | Evolution du module de perte G'' à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesuré à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés. | 105 |
| Figure 56. | Evolution du coefficient d'amortissement ($\tan\delta$) à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesuré à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés. | 106 |
| Figure 57. | Evolution de la position du module de perte maximal ($f_{G''_{\max}}$) avec l'indice de polydispersité (I) des pelotes statistiques mesuré par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés. | 107 |
| Figure 58. | Evolution des modules de conservation (G') et de perte (G'') mesurés à 0,01 Hz (100°C, $\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en poids (M_w) de l'ensemble de la fraction soluble, évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés. | 108 |
| Figure 59. | Représentation Cole-Cole ($G''=f(G')$) permettant de déterminer graphiquement certains paramètres décrits par le modèle de Perez ^[113] | 109 |
| Figure 60. | Représentation Cole-Cole des propriétés rhéologiques mesurées lors de balayages en fréquences réalisés en double cisaillement à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$), pour deux gommés de caoutchouc naturel laminés présentant des taux de gel total très différents..... | 110 |
| Figure 61. | Corrélations entre les taux de gel total (A) et de Gel _{>1μ} (B) déterminés par SEC-MALS en mode TBABr, et le paramètre K' calculé à partir des courbes Cole-Cole, pour une sélection 25 gommés laminés. | 112 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Figure 62. | Fraction de microagrégats collectée par SEC préparative en mode TBABr, pour une solution de caoutchouc naturel préparée à partir de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1)..... | 116 |
| Figure 63. | Observations TEM d'un dépôt réalisé à partir de la solution de Microgel _{<1μ} préparée par SEC en mode TBABr. | 119 |
| Figure 64. | Observations TEM du macrogel de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1). | 120 |
| Figure 65. | Distributions en nombre et en volume des particules présentes dans la fraction soluble filtrée à 1 μm et dans la solution de Microgel _{<1μ} préparée par SEC en mode TBABr, de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1), caractérisées par diffusion dynamique de la lumière..... | 121 |
| Figure 66. | Spectres FT-IR normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm ⁻¹ , du macrogel de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) ayant subi différents lavages. | 124 |
| Figure 67. | Fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1) étudiées par SDS-PAGE..... | 125 |
| Figure 68. | Gel d'électrophorèse SDS-PAGE des extraits protéiques obtenus à partir des différentes fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1)..... | 126 |
| Figure 69. | Protocole d'extraction de macrogel et de fraction soluble, et détails des conditions expérimentales. | 128 |
| Figure 70. | Spectres FT-IR des différentes fractions de la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1), normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm ⁻¹ (monomère <i>cis</i> -1,4-isoprène). | 132 |
| Figure 71. | Spectres FT-IR des différentes fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1), normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm ⁻¹ (monomère <i>cis</i> -1,4-isoprène). | 133 |
| Figure 72. | Evolution de l'absorbance maximale normalisée de la bande amide I (1630 cm ⁻¹) avec le taux d'azote pour les macrogels de onze gommes de caoutchouc naturel..... | 133 |
| Figure 73. | Analyses par chromatographie sur couche mince des extraits lipidiques des différentes fractions de deux échantillons de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriqués à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16)..... | 136 |
| Figure 74. | Spectres infrarouges normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm ⁻¹ , de deux échantillons de macrogel issus des gommes CA10THP03 (A : RRIM600) et CA10CIP16 (B : GT1), avant et après extraction lipidique..... | 138 |

LISTE DES FIGURES (SUITE)

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Figure 75. | Concentrations en éléments minéraux mesurées et normalisées déterminées par ICP-MS, pour les différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16). | 141 |
| Figure 76. | Surfaces de la gomme CA10THP03 (CN) ainsi que de la fraction soluble (FS) et du macrogel (MG) correspondants observés par microscopie électronique à balayage (MEB) en mode SE et BSE. | 143 |
| Figure 77. | Corrélation observée entre les concentrations en éléments minéraux mesurées par MEB-EDX et ICP-MS. | 144 |
| Figure 78. | Observations MEB (mode BSE) de la surface des gommes CA10THP03 et CA10CIP16.. | 145 |
| Figure 79. | Observations MEB de la surface du macrogel de la gomme CA10THP03..... | 146 |
| Figure 80. | Observations MEB de la surface de la fraction soluble de la gomme CA10THP03. | 147 |
| Figure 81. | Spectre RMN ^1H de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1). | 150 |
| Figure 82. | Nomenclature utilisée pour l'attribution des signaux en spectroscopie RMN. ... | 150 |
| Figure 83. | Spectres RMN ^{13}C (excitation directe ; rouge) et ^{13}C CP-MAS (polarisation croisée ; bleu) d'un échantillon de caoutchouc naturel du projet CANAOPT. | 152 |
| Figure 84. | Protocole mis en place pour étudier l'influence de l'homogénéisation sur les résultats RMN. | 153 |
| Figure 85. | Spectres RMN ^{13}C CP-MAS mesurés pour le macrogel et la fraction soluble de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1). | 156 |
| Figure 86. | Spectres RMN ^1H mesurés pour le macrogel et la fraction soluble de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1). | 157 |
| Figure 87. | Propriétés rhéologiques mesurées en double cisaillement, à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) des différentes fractions de la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1). | 159 |
| Figure 88. | Influence du taux de protéines d'un macrogel avant (A) et après (B) gonflement sur son degré de réticulation. | 165 |
| Figure 89. | Evolution des propriétés rhéologiques d'un macrogel avec son degré de réticulation..... | 166 |
| Figure 90. | Rôle des protéines dans la structure du macrogel du caoutchouc naturel. | 167 |

INTRODUCTION GENERALE

Le caoutchouc naturel (en anglais « *Natural Rubber* » ou *NR*), est un matériau élastomère fabriqué à partir du latex d'*Hevea brasiliensis*. Les propriétés inégalées de ce matériau (grande élasticité, collant à cru, cristallisation sous contrainte ...) le rendent difficilement remplaçable dans les domaines du pneumatique, ou de l'antivibratoire notamment. La qualité de ce biopolymère est encadrée par la Norme ISO 2000, définissant plusieurs grades et permettant de garantir certains niveaux de critères aux manufacturiers, professionnels de la deuxième transformation du caoutchouc naturel. La composition du produit et certaines propriétés de mise en œuvre sont ainsi garanties par les usines de première transformation, dans le cadre de cette norme internationale. Malgré cela, une certaine variabilité des propriétés de mise en œuvre va engendrer des problèmes de fabrication et des rebuts parfois importants lors de la deuxième transformation. Les principales causes de cette variabilité des propriétés du caoutchouc naturel peuvent être agronomiques (saison, clones utilisés, système d'exploitation) ou bien liées aux différents procédés utilisés lors de la production du caoutchouc naturel pendant la première transformation.

Cette problématique de la variabilité de la qualité du caoutchouc naturel dans le domaine de l'antivibratoire, fait l'objet d'un projet collaboratif dénommé CANAOPT (CAoutchouc NATurel OPTimisé ; 2011-2016). Ce projet, labellisé par le pôle de compétitivité Elastopole, vise à identifier et à quantifier les sources de variabilité, ainsi qu'à développer de nouveaux grades de caoutchouc naturel à variabilité réduite et contrôlée, pour des applications antivibratoires. Ce consortium regroupe cinq industriels français : Hutchinson, Anvis, EMAC, Metaldyne et Michelin ; ainsi que trois organismes de recherche : le Laboratoire de Recherches et de Contrôle du Caoutchouc et des Plastiques (LRCCP), l'Université du Maine et le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD).

Dans le cadre du projet CANAOPT, le consortium a décidé de financer cette thèse intitulée « *Etude des interactions à l'origine de la structure associative du caoutchouc naturel et de leurs influences sur les propriétés rhéologiques* » pendant la période 2012-2015. Elle vise à mieux comprendre l'origine du gel du caoutchouc naturel, et son influence sur les propriétés rhéologiques du matériau brut, i.e. non vulcanisé. Le caoutchouc naturel possède en effet une structure très particulière, responsable de ses propriétés remarquables. L'élément majoritaire (94% m/m) est un poly(*cis*-1,4-isoprène) de masses molaires élevées. Ce matériau présente également une structure dite « associative », causée par la présence de composés non-isoprènes, ou « non-caoutchoucs », à hauteur de 6% m/m. Certains de ces composés non-isoprènes, comme les protéines, les lipides ou bien certains éléments minéraux, sont supposés

interagir avec les chaînes macromoléculaires, et seraient ainsi à l'origine de la phase gel du caoutchouc naturel. Cette phase gel est constituée du « macrogel » correspondant à la fraction insoluble du matériau dans les bons solvants du poly(*cis*-1,4-isoprène), et du « microgel » constitué de microagrégats dispersés dans la fraction soluble. La présence de gel dans le caoutchouc naturel est supposée apporter des propriétés particulières au matériau.

La première partie de cette thèse est une synthèse bibliographique, présentant les principales études scientifiques traitant de la structure associative du caoutchouc naturel, ainsi que de son influence sur les propriétés mécaniques et rhéologiques du matériau brut.

La partie expérimentale de ce manuscrit est organisée en trois chapitres. Le premier chapitre traite de la phase de développement des trois principales méthodes de caractérisation utilisées dans ce travail de thèse. La première méthode développée permet de quantifier les protéines et certains lipides présents dans le matériau, par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), en réflexion totale atténuée (ATR). La deuxième méthode présentée permet de caractériser la structure du matériau à l'échelle mésoscopique (structure macromoléculaire, taux de gels) par chromatographie d'exclusion stérique couplée à un détecteur de diffusion de la lumière multi-angulaire (SEC-MALS). Le conditionnement préalable des colonnes de SEC avec une solution contenant un sel d'ammonium quaternaire, permet d'accéder à des informations supplémentaires et ainsi de caractériser de façon plus complète la phase gel du caoutchouc naturel. Enfin, une dernière méthode a été développée en analyse thermomécanique dynamique (DMTA) afin de caractériser les propriétés rhéologiques des échantillons de caoutchouc naturel fabriqués dans le cadre du projet CANAOPT, mais également de leurs macrogels et fractions solubles respectifs.

Le deuxième chapitre concerne la caractérisation physicochimique d'une sélection d'échantillons de caoutchouc naturel, issus du projet CANAOPT. Des corrélations entre la mésostructure et les propriétés rhéologiques du matériau brut y sont notamment recherchées. L'influence de la longueur des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) et du taux de gel sur les propriétés du caoutchouc naturel, est discutée.

Enfin, le dernier chapitre traite de la caractérisation physicochimique des fractions solubles et insolubles du caoutchouc naturel. La composition et les propriétés rhéologiques de chacune de ces fractions ont notamment été étudiées, afin de proposer un modèle expliquant la structure associative du caoutchouc naturel.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur le caoutchouc naturel

Le caoutchouc naturel est un matériau polymère fabriqué à partir du latex d'*Hevea brasiliensis*. Cet arbre, originaire de la forêt amazonienne, est très largement exploité en Asie du Sud-Est. En 2013, 93,1% de la production mondiale de caoutchouc naturel, estimée à 12,1 millions de tonnes, sont issus des plantations asiatiques (Source IRSG). La Thaïlande (34,5%), l'Indonésie (25,5%) et le Vietnam (7,9%) sont les trois principaux pays producteurs.

Ce matériau, qui représente 42,4% des élastomères consommés dans le monde, est principalement destiné à l'industrie du pneumatique qui consomme 70% de la production mondiale. Le caoutchouc naturel est également très utilisé dans le domaine de l'antivibratoire, où il représente environ 60% des élastomères consommés.

1.1. Fabrication et transformation du caoutchouc naturel

Actuellement, il existe seulement une trentaine de clones d'*Hevea brasiliensis*, présentant des génotypes particuliers, en exploitation dans le monde. Les clones GT1, RRIM600 et PB235 font notamment partis des plus plantés. La culture de l'*Hevea brasiliensis* débute par le greffage d'un bourgeon axillaire issu d'un arbre mature, sur un jeune plant élevé en pépinière. Le porte-greffe est ensuite planté dans une parcelle d'exploitation. Une période d'immaturité de 5 à 7 ans, durant laquelle l'arbre poursuit sa croissance, est alors respectée. L'arbre mature est ensuite exploité sur une période moyenne de 25 à 30 ans. Le latex d'*Hevea brasiliensis*, utilisé dans la fabrication du caoutchouc naturel, est extrait par saignée de l'arbre. Il existe plusieurs systèmes d'exploitation, faisant varier la fréquence des saignées (quotidienne à hebdomadaire), la longueur et le sens de l'encoche réalisée dans l'écorce, la position du panneau de saignée et la stimulation des arbres ^[1]. Ce latex, constitué d'environ 65% d'eau, est une suspension colloïdale de particules de caoutchouc. La membrane de ces particules est notamment constituée de protéines ^[2], dont le point isoélectrique relativement bas assure la stabilité du latex, à pH neutre.

Plusieurs procédés sont couramment utilisés pour fabriquer du caoutchouc naturel à partir de latex d'*Hevea brasiliensis*. Chaque procédé conduit à un grade différent dont les spécificités sont encadrées par la Norme internationale ISO 2000. La figure 1 décrit les différentes étapes de la fabrication des principaux grades de caoutchouc naturel, ainsi que la proportion de chacun de ces grades dans la production mondiale ^[3].

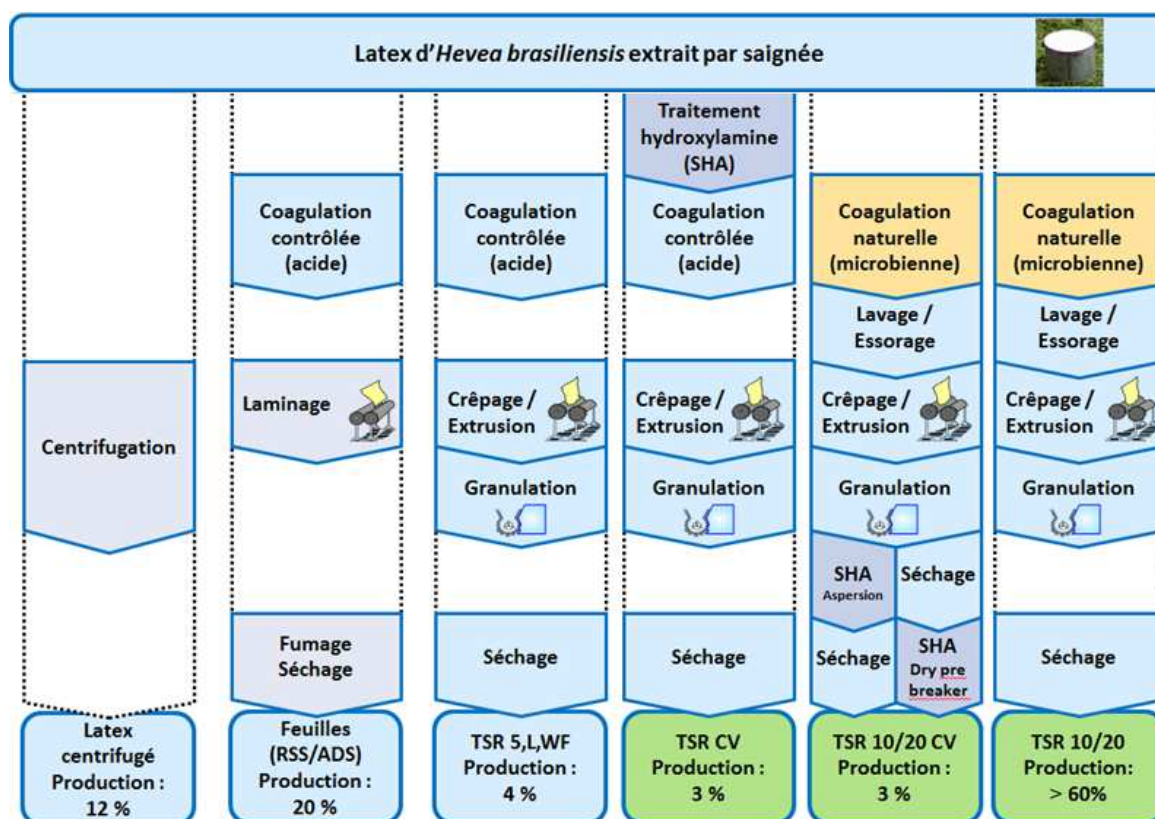


Figure 1. Procédés de fabrication des principaux grades de caoutchouc naturel ^[3]. Seuls certains grades TSR et TSR stabilisés (CV) sont étudiés dans le projet CANAOPT.

La coagulation du latex, provoquée par une diminution du pH de la suspension colloïdale, constitue la première étape de l'ensemble des procédés de fabrication du caoutchouc naturel sec. La coagulation peut avoir lieu de façon naturelle sous l'action des microorganismes, directement dans les tasses de saignée. Le latex peut également être acheminé en usine avant coagulation, où il est d'abord filtré. L'ajout d'acide formique ou acétique permet ensuite de coaguler le latex de façon contrôlée. Notons que le latex non coagulé et concentré par centrifugation (12% de la production mondiale), est directement utilisé pour la fabrication d'articles au trempé comme les gants en caoutchouc naturel, ou les préservatifs.

Les coagulums subissent ensuite différents procédés selon le type de produit visé. Le laminage des coagulums est utilisé dans la fabrication des grades de type « feuilles fumées » (RSS : *Ribbed-Smoked Sheets*) représentant 20% de la production mondiale. Les coagulums destinés à la fabrication des grades TSR (*Technically Specified Rubber*), constitués de granulés compactés (60% de la production mondiale), subissent des étapes successives de lavage, de crêpage puis de granulation. Un traitement chimique des granulés, avec une solution de sulfate d'hydroxylamine, peut être mis en place pour stabiliser les propriétés du caoutchouc naturel et

ainsi préparer les grades de type CV (*Constant viscosity*). Des étapes de séchage, par fumage ou à l'air chaud, viennent clore l'ensemble des procédés de fabrication de caoutchouc naturel sous forme solide.

Les échantillons de caoutchouc naturel ainsi préparés, couramment appelés « gommés » dans l'industrie du caoutchouc, subissent ensuite une « deuxième transformation » lors de la fabrication des objets finis. Cette seconde transformation, qui a lieu chez les manufacturiers, peut être décomposée en trois grandes étapes ^[3], décrites par la figure 2. La gomme est d'abord mastiquée et des additifs (noir de carbone ; agents de vulcanisation ; huiles ...) sont ajoutés durant la phase de mélangeage (1). Le mélange est ensuite mis en forme par extrusion ou calandrage (2). La vulcanisation (3) permet enfin une réticulation chimique des chaînes macromoléculaires.

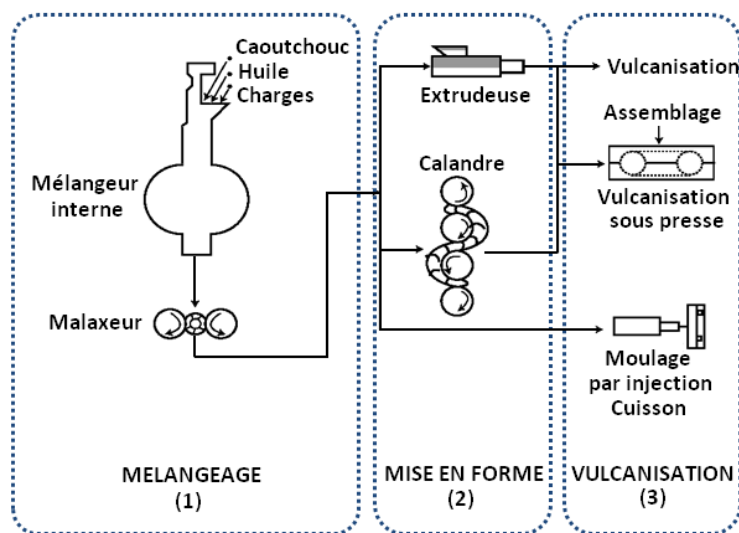


Figure 2. Schéma général de fabrication d'articles en caoutchouc naturel.

Des problèmes de fabrication, causés par une trop grande variabilité des propriétés des mélanges à base de caoutchouc naturel, peuvent intervenir durant les différentes étapes de cette deuxième transformation, et mener à des rebuts importants.

1.2. Variabilité des propriétés du caoutchouc naturel

Afin de garantir une certaine qualité des différents produits, la Norme ISO 2000 définit des critères d'appartenance d'une gomme à un grade spécifique. La teneur en impuretés ^[4], mais également les taux de matières volatiles, d'azote et de cendres sont des paramètres physico-chimiques contrôlés chez les producteurs. Cette norme prévoit également des critères rhéologiques, avec des mesures de plasticité Wallace (P_0), d'indice de rétention de plasticité

(PRI) ou bien de viscosité Mooney ($ML_{(1+4)}$) pour les grades TSR stabilisés. Pour chacun des paramètres contrôlés, des valeurs seuils permettent une classification des différentes gommes produites.

Malgré ces indicateurs, une certaine variabilité des propriétés de mise en œuvre du caoutchouc naturel peut être observée, au sein d'un même grade. Des facteurs environnementaux (climat, saison), des facteurs agronomiques (clones, systèmes d'exploitation) et des facteurs d'usinage peuvent influencer sur les propriétés du caoutchouc naturel brut. Par exemple, la saison de production est connue pour impacter l'indice de rétention de plasticité (PRI) des gommes, qui est un indicateur de la résistance à l'oxydation thermique ^[5]. La variation de PRI avec la saison de fabrication des gommes peut atteindre 50%. Parmi les facteurs agronomiques, l'origine clonale du latex utilisé a une influence primordiale sur les propriétés du caoutchouc naturel fabriqué ^[5-8]. Concernant les facteurs d'usinage, chacune des étapes mises en œuvre durant la fabrication du caoutchouc naturel à partir du latex d'*Hevea brasiliensis*, peut entraîner des différences de propriétés entre les gommes. Par exemple, les temps de maturation et de stockage peuvent impacter la structure et les propriétés du caoutchouc naturel ^[9-11]. La phase de séchage, durant laquelle des réactions de réticulation et de thermo-oxydation entraînent une évolution des masses molaires moyennes, influe également sur la plasticité du matériau final ^[12].

2. Structure du caoutchouc naturel

L'étude de la structure particulière du caoutchouc naturel, à l'origine des propriétés exceptionnelles du matériau brut, passe d'abord par une harmonisation des termes employés et par la définition de plusieurs niveaux d'exploration. Sainte-Beuve *et al.* ^[3] ont ainsi défini plusieurs échelles de structure. L'étude de la composition du caoutchouc naturel et de la structure des unités constitutives de la macromolécule, relève de la « microstructure » du matériau. L'analyse des masses molaires moyennes, de l'indice de polydispersité du polymère, ainsi que des différents taux de gels en présence, concerne l'étude de la « mésostructure » du caoutchouc naturel. Il s'agit ici des propriétés du matériau à l'échelle macromoléculaire. Les auteurs définissent enfin une échelle supramoléculaire, ou encore « macrostructure », pour discuter des propriétés du matériau.

Dans cette deuxième partie, un point sera fait sur les deux premiers niveaux de structure proposés par Sainte-Beuve *et al.* ^[3]. La composition et la mésostructure du caoutchouc naturel y sont présentées. Les propriétés mécaniques et rhéologiques du matériau sont discutées dans la dernière partie de cette synthèse bibliographique.

2.1. Composition du caoutchouc naturel

2.1.1. Principaux composés non-isoprènes

Le caoutchouc naturel est constitué en moyenne de 94% (m/m) de poly(*cis*-1.4-isoprène) et de 6% (m/m) de composés non-isoprènes. Ces composés, couramment appelés composés « non-caoutchoucs » (*non-rubber compounds*), font pourtant partie intégrante du caoutchouc naturel, et certains d'entre eux seraient à l'origine de la structure associative de ce matériau ^[13]. Certains composés non-isoprènes ont également une influence sur le comportement du matériau lors de la vulcanisation ^[14, 15], ainsi que sur les propriétés après vulcanisation ^[16]. Parmi ces composés non-isoprènes, on retrouve principalement des lipides (1,5 – 3% m/m), des protéines (2% m/m), des glucides (0,4% m/m) et des éléments minéraux (0,2% m/m) ^[17-19].

- **Les lipides**

Plusieurs études relativement anciennes traitent des lipides présents dans la composition du latex d'*Hevea brasiliensis* et du caoutchouc naturel ^[20-23]. Toutefois, les différentes méthodes d'extraction utilisées ne permettent pas une comparaison claire des résultats obtenus. Afin de rendre possible une telle comparaison, Liengprayoon *et al.* ^[24] ont développé un protocole d'extraction des lipides du caoutchouc naturel. Une extraction solide-liquide, après broyage de la gomme sous azote liquide, permet un passage des lipides en solution, qui peuvent ensuite être quantifiés après lavage et séchage. L'extrait lipidique obtenu peut également être caractérisé par des méthodes chromatographiques variées ^[25]. Liengprayoon *et al.* ^[26] ont ainsi détaillé la composition lipidique complète de trois échantillons de type USS (*Unsmoked sheets*) fabriqués à partir de latex de trois clones différents. Trois classes de lipides ont été mises en évidence : les lipides neutres (83 – 86%) comprenant notamment des acides gras libres, les glycolipides (10 – 12,5%) et les phospholipides (4%). Il a été montré une influence du clone sur la composition lipidique du caoutchouc naturel. Les feuilles de caoutchouc naturel fabriquées à partir de latex du clone PB235 présentent notamment des taux de lipides supérieurs aux clones RRIM600 et BPM24, ainsi qu'une composition lipidique différente. Notamment, la proportion d'acide gras furanique dépasse 80% des acides gras présents pour les feuilles issues du clone PB235, alors qu'elle est respectivement de 18% et 30% pour les feuilles issues des clones RRIM600 et BPM24.

- **Les protéines**

Le latex d'*Hevea brasiliensis* contient jusqu'à 1,5% (m/v) de protéines, correspondant à 3,7% de sa masse sèche ^[18]. Ces protéines sont très variées, et présentent une large gamme de masses molaires ^[27, 28]. Dai *et al.* ^[29] ont étudié le protéome des particules de caoutchouc en suspension dans le latex. Ils ont ainsi identifié 186 protéines différentes, avec des masses

molaires comprises entre 3,9 et 194,2 kDa. Ces protéines sont en partie retrouvées dans le caoutchouc naturel (2% m/m). Les protéines les plus étudiées sont probablement la REF (*Rubber elongation factor* ; 14,6 kDa) et la SRPP (*Small rubber particle protein* ; 24 kDa), de par leurs propriétés allergènes ^[30]. Un caoutchouc naturel sans protéine (0% m/m) a récemment été préparé en laboratoire par des étapes successives de traitement enzymatique et de lavage avec un surfactant, mais présente des propriétés mécaniques très réduites ^[31].

Le taux de protéines d'une gomme de caoutchouc naturel est généralement estimé par un dosage élémentaire de la quantité d'azote, par exemple avec la méthode Kjeldhal ^[32], les protéines étant la principale source d'atomes d'azote du matériau. D'autres techniques, comme les méthodes colorimétriques Lowry ^[33] ou BCA (*BiCinchoninic acid assay*) ^[34] peuvent être employées, mais se limitent à l'étude des protéines extractibles du caoutchouc naturel.

- **Les glucides et polyols**

Parmi les glucides et polyols présents dans la composition du latex d'*Hevea brasiliensis* et du caoutchouc naturel, le québrachitol et le saccharose sont les espèces les plus importantes ^[18]. D'autres composés, tels que le glucose ^[35] ou le fructose, sont également présents dans des concentrations inférieures.

- **Les éléments minéraux**

Le latex d'*Hevea brasiliensis* contient naturellement un certain nombre de composés inorganiques (Tableau 1), à hauteur de 1,2% de sa masse sèche ^[18]. Une partie de ces éléments minéraux est retrouvée dans le caoutchouc naturel (~ 0,2% m/m). Très récemment, Thepchalerm ^[36] a quantifié certains des éléments minéraux présents dans une feuille de caoutchouc naturel (grade RSS) issue du latex du clone RRIT251, par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS). L'échantillon analysé a montré la présence de phosphore (P ; 600 ppm), de potassium (K ; 410 ppm), de magnésium (Mg ; 85 ppm), de calcium (Ca ; 11 ppm), de soufre (S ; 10 ppm), de fer (Fe ; 9 ppm), de sodium et de zinc (Na, Zn ; 1,5 ppm) ainsi que des traces (< 0,5 ppm) de titane (Ti), de manganèse (Mn) et de cuivre (Cu).

L'ensemble de ces composés non-isoprènes influence les propriétés finales du caoutchouc naturel. Par exemple, la grande stabilité à l'oxydation du matériau repose sur la présence de certains composés aux propriétés antioxydantes, comme les tocotriénols principalement ^[37], ou les protéines ^[38]. D'autre part, certains composés inorganiques, comme le cuivre ou le fer sont des composés pro-oxydants ^[37]. Le ratio entre les concentrations des composés des deux catégories pourrait ainsi déterminer la sensibilité du caoutchouc naturel à l'oxydation.

Tableau 1. Eléments minéraux présents dans le latex d'*Hevea brasiliensis*.

| Eléments minéraux | Concentrations (ppm) | Sources |
|-------------------|----------------------|--------------|
| K | 1000 – 5000 | [39-42] |
| Na | 70 – 1000 | [41, 42] |
| Mg | 10 – 1200 | [39-44] |
| Pi | 100 – 700 | [40, 45, 46] |
| Ca | 0.5 – 300 | [39-44] |
| Fe | 10 – 120 | [41, 42] |
| Rb | 7 – 40 | [42] |
| Cu | 2 – 5 | [40, 42] |
| Mn | traces | [42, 47] |
| Zn | traces | [47] |
| Pb | traces | [47] |

Pi: Phosphore inorganique

2.1.2. Structure chimique des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel

- **Nature des groupements terminaux**

Les polyprénols d'origine naturelle sont constitués de $N = 8$ à 20 monomères isoprènes (Figure 3), et sont classés en trois groupes. Le premier groupe est uniquement composé d'unités isopréniques en configuration *trans* ($n=N$; $m=0$). Les deuxième et troisième groupes sont constitués d'une majorité de monomères en configuration *cis*, avec seulement deux ($n=2$; $m=N-2$) et trois ($n=3$; $m=N-3$) monomères en configuration *trans* respectivement. Quelque soit le groupe considéré, les bouts de chaînes des polyprénols sont toujours constitués d'un groupement terminal diméthylallyle (ω) et d'un groupement terminal hydroxyle (α).

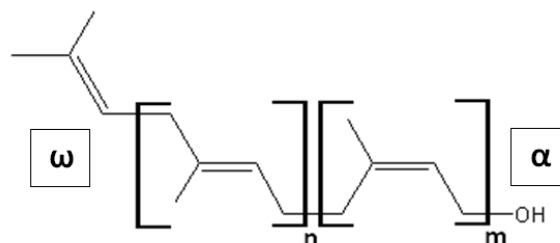


Figure 3. Structure chimique des polyprénols d'origine naturelle. Ces polyprénols, composés de $N = 8$ à 20 unités isopréniques, sont classés en trois groupes : 1) $n=N$ et $m=0$; 2) $n=2$ et $m=N-2$; 3) $n=3$ et $m=N-3$.

Ces groupements terminaux ω et α ne sont pas retrouvés sur les chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) de faibles masses molaires du caoutchouc naturel (Figure 4), isolées par Tanaka *et al.* [13]. Les espèces initiantes et les processus de terminaison intervenant dans la biosynthèse du polyisoprène d'*Hevea brasiliensis* sont donc probablement différents de ceux des polyprénols d'origine naturelle (Figure 3).

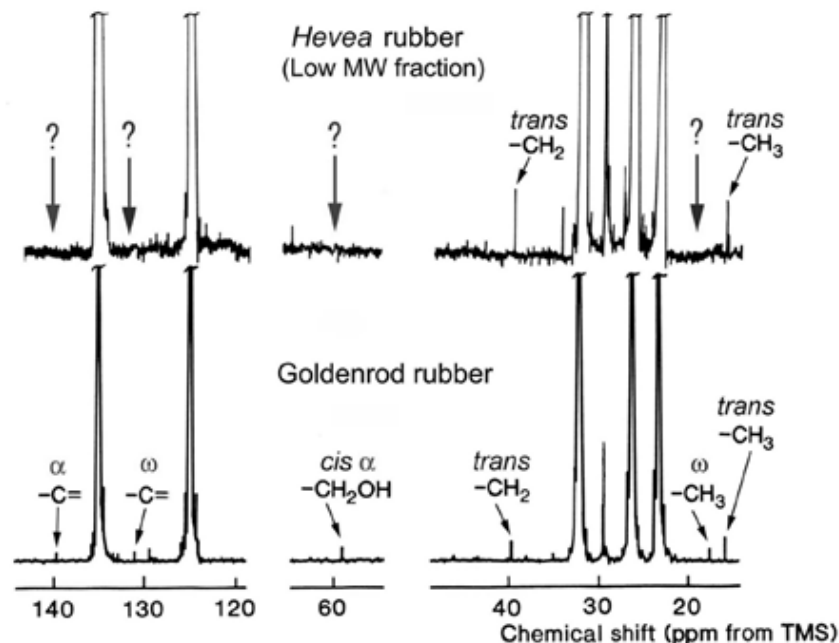


Figure 4. Analyses structurales (RMN ^{13}C) de la fraction de faibles masses molaires du poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel, et d'un polyprénol d'origine naturelle (Goldenrod) [13].

A l'heure actuelle, la nature du groupement terminal ω' des chaînes macromoléculaires du caoutchouc naturel n'a pas été déterminée. Concernant le groupement terminal α' , l'analyse structurale de la fraction de faibles masses molaires d'une gomme déprotéinée par traitement enzymatique, a permis de mettre en évidence des signaux attribuables à des mono- ou di-phosphates et à des phospholipides (Figure 5) [13, 48].

Tanaka *et al.* [13] ont ainsi proposé un modèle décrivant la structure des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) présentes dans le caoutchouc naturel (Figure 6). La macromolécule proposée par les auteurs, est constituée d'un groupement terminal ω' non identifié, mais supposé pouvoir entrer en interaction avec les protéines présentes dans le matériau. Ce premier groupement terminal est lié à la macromolécule par l'intermédiaire de deux monomères isoprènes en configuration *trans* [49, 50]. La chaîne macromoléculaire proposée est ensuite constituée de 1000 à 3000 monomères en configuration *cis*. Le groupement terminal α' serait enfin composé d'un phospholipide lié de façon covalente à la chaîne macromoléculaire,

par l'intermédiaire d'un ou deux groupements phosphonates. Rappelons toutefois que le modèle proposé par Tanaka *et al.* ^[13] est uniquement basé sur une étude structurale de la fraction de poly(*cis*-1,4-isoprène) de faibles masses molaires. Les macromolécules de masses molaires élevées ne sont jamais considérées.

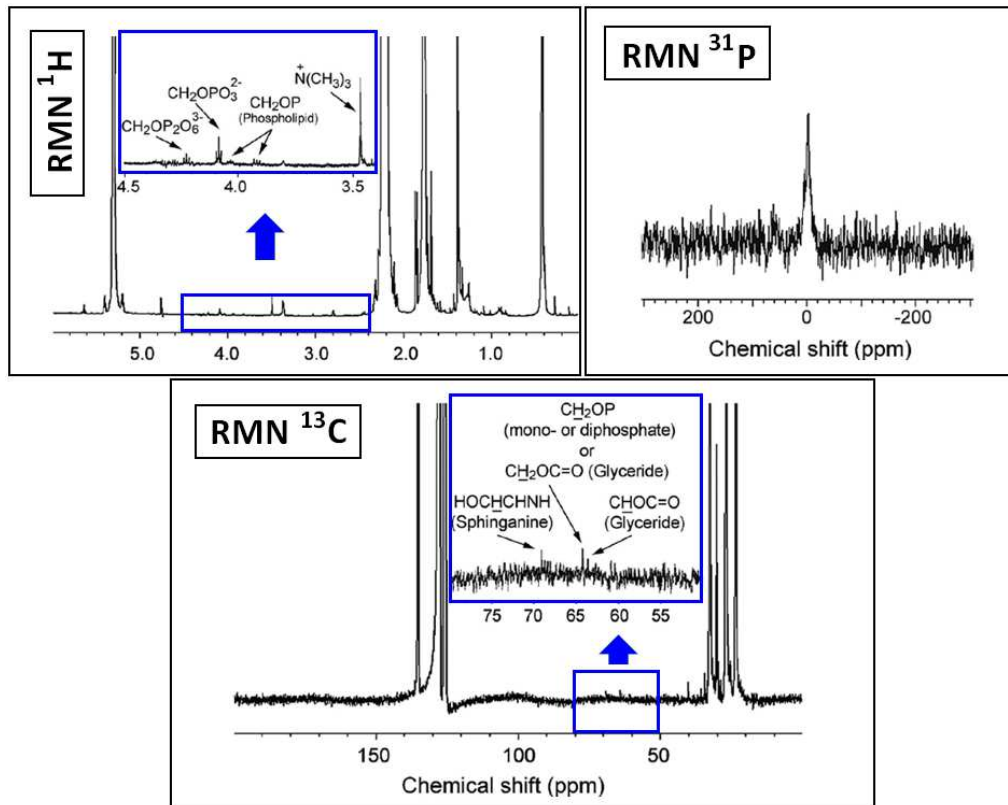


Figure 5. Analyse structurale par RMN de la fraction de poly(*cis*-1,4-isoprène) de faibles masses molaires d'un caoutchouc naturel déprotéiné ^[13].

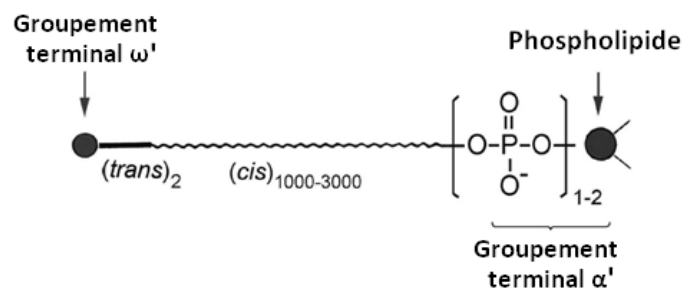


Figure 6. Structure de la macromolécule de poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel, proposée par Tanaka *et al.* ^[13].

- **Présence de groupements anormaux**

Les chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel présenteraient également un certain nombre de groupements anormaux, tels que des aldéhydes ^[51], des époxydes ^[52], ou des esters ^[53]. Ces groupements anormaux sont supposés interagir avec certains composés non-isoprènes, comme les protéines ^[53] ou certains cations métalliques ^[44]. Les aldéhydes sont notamment supposés intervenir dans le durcissement au stockage¹ des gommes de caoutchouc naturel. L'ajout de groupements fonctionnels amines permet d'inhiber le vieillissement naturel d'une gomme en neutralisant les fonctions aldéhydes présentes, justifiant ainsi l'emploi de sulfate d'hydroxylamine dans la fabrication des grades stabilisés de type CV. Sekhar ^[54] a estimé entre 9 et 35, le nombre de groupements aldéhydes par macromolécule de poly(*cis*-1,4-isoprène), en déterminant la concentration d'hydroxylamine nécessaire pour inhiber ce durcissement au stockage.

2.2. Mésostructure du caoutchouc naturel

La mésostructure du caoutchouc naturel correspond à la structure macromoléculaire des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) et des agrégats ou gel se formant par interactions entre les macromolécules. Les paramètres mésostructuraux (masses molaires moyennes, indice de polydispersité, taux de gels, etc.) permettant de caractériser une gomme de caoutchouc naturel, sont déterminés après mise en solution de l'échantillon dans un bon solvant du polyisoprène.

2.2.1. Macromolécules de poly(cis-1,4-isoprène)

Le caoutchouc naturel est composé de chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) de masses molaires comprises entre 10 et 10⁴ kg/mol (Figure 7) ^[55]. Les masses molaires les plus importantes correspondent à des chaînes constituées de près de 150 000 unités monomères. En comparaison, les plantes produisant du poly(*cis*-1,4-isoprène) de masses molaires équivalentes, comme le guayule ^[56, 57] ou certaines laitues ^[58], sont très peu nombreuses. Notons que le modèle proposé par Tanaka *et al.* ^[13] décrit des macromolécules constituées de seulement 1000 à 3000 unités monomères, mais correspond uniquement à une fraction de faibles masses molaires (Figure 6). La distribution des masses molaires des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) dépend fortement du clone utilisé ^[8, 59]. Cette distribution peut être clairement bimodale (clone GT1), ou quasiment unimodale (clone PB330 ; Figure 7). De la même façon, les masses molaires

¹ Le caoutchouc naturel est un matériau dont la structure et les propriétés évoluent dans le temps. On parle de durcissement au stockage. Le traitement au sulfate d'hydroxylamine (SHA) utilisé dans la fabrication des grades TSR stabilisés (de type CV) bloque ce phénomène de durcissement au stockage.

moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des macromolécules dépendent de l'origine clonale du latex ^[60] mais aussi du procédé de fabrication mis en œuvre ^[61].

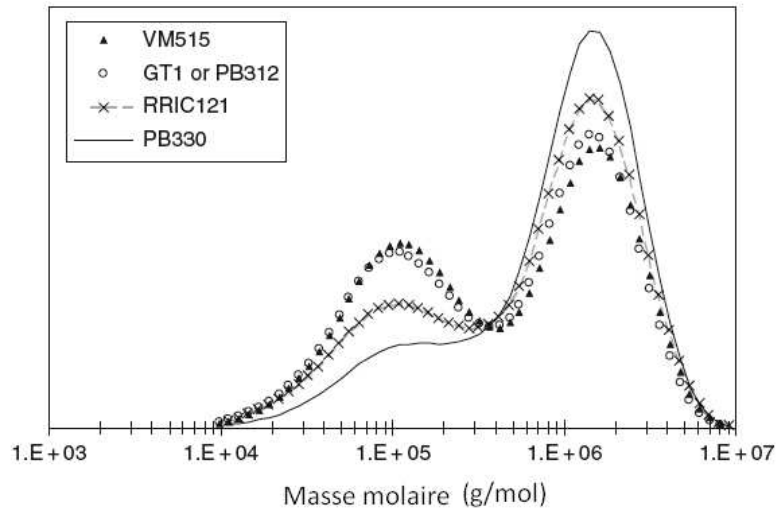


Figure 7. Distribution des masses molaires des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) pour cinq clones d'*Hevea brasiliensis* ^[55].

Plusieurs études ont mis en avant la structure ramifiée des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel ^[62-64]. D'autres travaux tendent cependant à montrer que ces macromolécules ont une structure linéaire ^[28]. Kim *et al.* ^[65] ont notamment étudié par chromatographie d'exclusion stérique couplée à un détecteur de diffusion de la lumière multi-angulaire (SEC-MALS), l'évolution des rayons de giration avec les masses molaires (« *conformation plot* ») des pelotes statistiques présentes dans des solutions de caoutchouc naturel. Les chaînes macromoléculaires de masses molaires élevées ($M_w > 10^3$ kg/mol) des six gommes (de grades TSR et TSR stabilisés) étudiées étaient peu ou pas ramifiées. Tarachiwin *et al.* ^[48] ont calculé le ratio entre les masses molaires moyennes en nombre (M_n) théoriques et apparentes, respectivement mesurées par spectroscopie RMN et par osmométrie, pour établir le taux de branchement d'échantillons de caoutchouc naturel. Ce ratio est égal à 1 pour des gommes déprotéinées et transestérifiées, traduisant la linéarité des chaînes macromoléculaires. Les gommes déprotéinées présentent quant à elle un ratio proche de 2. Les macromolécules des échantillons déprotéinés seraient donc constituées de deux chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) linéaires, liées entre elles par une entité présentant au moins un groupement fonctionnel ester. Ce nœud de réticulation est détruit lors de la transestérification.

2.2.2. Notion de gel du caoutchouc naturel

La définition du terme « gel » est très discutée dans la littérature. Il s'agit généralement d'un système colloïdal, constitué d'au moins deux phases, dont l'une d'entre elles est un liquide

[66]. Flory [67] a proposé plusieurs classes de gels parmi lesquels on retrouve des réseaux polymères tridimensionnels constitués de chaînes macromoléculaires liées de façon covalente (1), ou physique (2). De par la réversibilité des interactions physiques (2), certains gels sont fortement dépendants des conditions expérimentales [68]. Il existe également des conditions d'ordre rhéologique permettant de définir ce type de matériau. Le module de conservation en cisaillement (G') d'un gel doit par exemple présenter un plateau très prononcé sur une large gamme de fréquences [69]. Le module de perte (G'') doit quant à lui être très inférieur à G' . Un gel est donc un matériau élastique présentant un amortissement très faible ($\tan\delta = G''/G' \ll 1$) [66].

Lorsqu'il est mis en solution dans un bon solvant du polyisoprène, le caoutchouc naturel présente une fraction insoluble (Figure 8), appelée le macrogel par certains auteurs [61, 70, 71] ou la phase gel par d'autres [13, 48, 72]. Dans la suite de ce manuscrit, la fraction insoluble du caoutchouc naturel sera appelée le macrogel. La fraction soluble est quant à elle composée de macromolécules de poly(*cis*-1,4-isoprène) ainsi que de microagrégats de tailles variables, appelés communément le microgel [61, 73].

Selon leur taille, plusieurs classes de microagrégats peuvent être soulignées. Voznyakovskii *et al.* [73] ont ainsi mis en évidence deux populations particulières de microagrégats, en étudiant des solutions de caoutchouc naturel par diffusion dynamique de la lumière (DLS). La première population est constituée de microagrégats de diamètres compris entre 0,9 et 5 μm , alors que la seconde population présente des diamètres plus importants, compris entre 5 et 12 μm . Notons que d'autres études ont souligné la présence de microagrégats plus petits, présentant des rayons de giration compris entre 110 et 140 nm [36, 74].

Les quantités des différents gels sont des caractéristiques mésostructurales importantes des gommes de caoutchouc naturel, et varient d'un échantillon à l'autre [71, 73]. En effet, les taux de gels dépendent de l'origine clonale du latex utilisé, mais aussi de l'âge de l'arbre au moment de la saignée [54]. Par exemple, le latex récolté lors de la première saignée d'un arbre initialement vierge conduit à un caoutchouc naturel présentant un taux de macrogel important, de l'ordre de 70-90% (m/m) [71]. La quantité de macrogel diminue ensuite progressivement durant les 20 premières semaines de saignée de l'arbre, pour atteindre des taux inférieurs à 20% (m/m). Les procédés utilisés dans la fabrication des différents grades de caoutchouc naturel influent également sur les taux de gels. Par exemple, Intapun *et al.* [11] ont observé une augmentation du taux de gel avec le temps de maturation du latex.

3. Le gel du caoutchouc naturel

La phase gel du caoutchouc naturel, également appelée gel total, est constitué du macrogel (fraction insoluble) et du microgel (microagrégats en solution, Figure 8). Il s'agit d'un élément important de la mésostructure des gommés. Dans cette troisième partie, les différentes méthodes de quantification des taux de gels utilisées dans la littérature sont discutées. Les différents mécanismes proposés pour expliquer la structure de cette phase gel sont également présentés.

3.1. Quantification des taux de gels

Les méthodes utilisées dans la littérature pour quantifier les différents taux de gels des échantillons de caoutchouc naturel sont très variées, et rendent les résultats difficilement comparables. Les conditions expérimentales, telles que le solvant utilisé ^[53, 75], la température ou encore la durée de mise en solution ont une influence importante sur les taux de gels mesurés ^[75]. Par exemple, pour une même gomme de caoutchouc naturel, les quantités de gels les plus faibles sont mesurées lorsque l'échantillon est mis en présence de tétrahydrofurane (THF) ou de toluène, qui sont de très bons solvants du poly(*cis*-1,4-isoprène).

Le taux de gel d'une gomme de caoutchouc naturel peut être estimé de manière indirecte, par une mesure de l'extrait sec de la fraction soluble après filtration ^[75]. Toutefois, cette première méthode ne permet pas de distinction entre les taux de macrogel et de microgel, et semble dépendre de la porosité du filtre utilisé. Afin de quantifier séparément le macrogel et le microgel, des étapes successives de centrifugation et de filtration sur membrane peuvent être mises en place ^[53]. Le culot isolé par centrifugation correspond alors au macrogel, tandis que le microgel est retenu sur la membrane lors de la filtration. Les deux quantités peuvent alors être mesurées par gravimétrie, après séchage. Notons que Tanaka *et al.* ^[13, 32, 48] se limitent exclusivement à l'étape de centrifugation et ne quantifient finalement que le macrogel, qu'ils appellent « la phase gel », le microgel n'étant jamais considéré.

Les travaux menés au CIRAD tendent à proposer une méthode universelle pour la quantification des différents taux de gels du caoutchouc naturel. Après centrifugation, la fraction soluble filtrée à 1 μm est injectée en SEC-MALS. Le taux de recouvrement mesuré permet alors de quantifier le « Gel_{>1 μ} », correspondant à la somme du macrogel isolé par centrifugation, et des microagrégats de tailles supérieures à 1 μm (« Microgel_{>1 μ} ») retenus lors de la filtration ^[71, 76]. Le Microgel_{>1 μ} correspond à la différence entre les taux de Gel_{>1 μ} et de macrogel (Figure 8). Cependant, cette méthode ne permet pas de quantifier les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) qui sont injectés en SEC avec le reste de la fraction

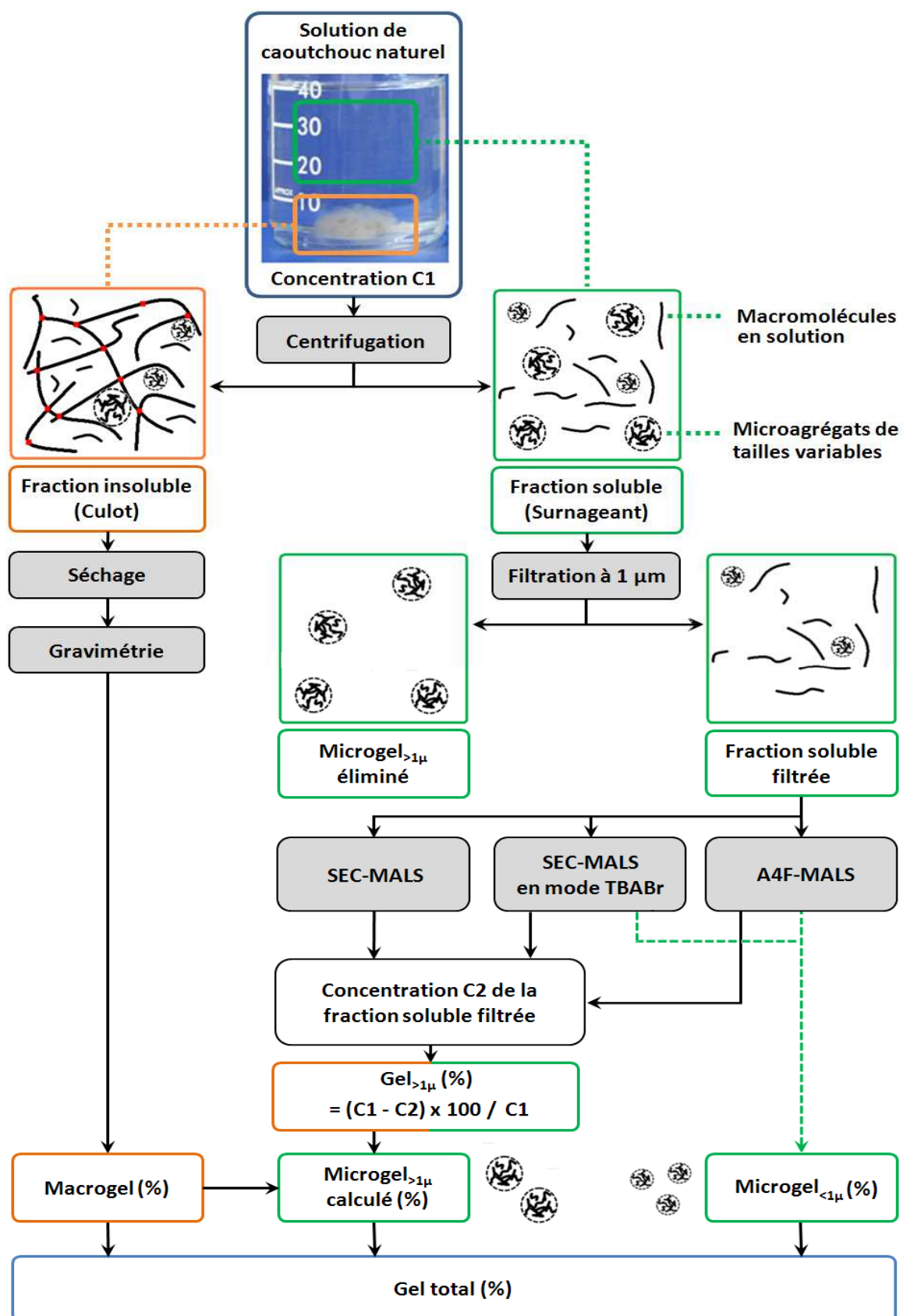


Figure 8. Méthodes développées par le CIRAD, pour la quantification des différents taux de gels du caoutchouc naturel.

soluble. Un phénomène d'élution « anormale », causé par une co-élution des microagrégats non-filtrés et des pelotes statistiques de faibles masses molaires, est alors observé en fin de chromatogramme ^[74, 77]. Cette élution anormale n'est pas retrouvée pour des solutions préparées à partir de polyisoprène synthétique dépourvu de gel.

Cette co-élution peut être évitée en conditionnant préalablement les colonnes de SEC avec une solution de bromure de tétrabutylammonium (TBABr) à 0,3% (m/v) dans du THF, pendant 24 h ^[74]. Ce conditionnement entraîne une élution plus rapide des microagrégats et ainsi une séparation du Microgel_{<1μ} et des pelotes statistiques. La SEC-MALS en mode TBABr présente cependant quelques limitations puisque le conditionnement des colonnes n'est pas définitif ; une diminution de l'efficacité du traitement ayant été observée entre 3 et 15 jours. De plus, l'ajout de TBABr dans la phase mobile utilisée durant les injections, ou directement dans les solutions de caoutchouc naturel, ne semble avoir aucun effet sur la séparation des microagrégats. Toutefois, par le biais de ce conditionnement, Kim *et al.* ^[74] ont pu estimer le taux de Microgel_{<1μ} de quelques échantillons de caoutchouc naturel (Figure 8). Le Fractionnement par couplage Flux-Force à Flux Asymétrique (A4F ou AFIFFF), permet également une séparation des pelotes statistiques et des microagrégats présents dans la fraction soluble filtrée à 1 μm (Figure 8). Cette technique, couplée à une détection MALS, peut être utilisée pour quantifier les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm ^[77]. L'utilisation de l'A4F-MALS ne nécessite aucun traitement particulier et semble être une méthode plus intéressante que le conditionnement des colonnes de SEC ^[74, 78]. Une première comparaison des deux techniques semble cependant indiquer que la dispersion des paramètres mésostructuraux calculés est bien plus importante en A4F-MALS ^[77]. L'utilisation de l'une de ces deux techniques pourrait permettre d'améliorer le protocole développé par le CIRAD. La nouvelle méthode permettrait ainsi de différencier les taux de microgels de tailles supérieures et inférieures à 1 μm, et de définir un taux de « Gel total » (Figure 8).

3.2. Mécanismes à l'origine du gel du caoutchouc naturel

Le rôle des interactions physiques réversibles dans la structuration du macrogel et du microgel du caoutchouc naturel semble très important. En effet, l'augmentation de la température de mise en solution permet de réduire considérablement les taux de gels mesurés ^[75]. Par exemple, le chauffage d'une solution de caoutchouc naturel entraînerait une diminution de la quantité de microagrégats de tailles supérieures à 5 μm identifiés par Voznyakovskii *et al.* ^[73]. De la même façon, l'ajout d'une faible quantité de solvant polaire (2% v/v d'éthanol) dans une solution de caoutchouc naturel préparée dans du toluène, serait accompagné d'une diminution du taux de macrogel, de 50% m/m initialement à 3% m/m pour la gomme étudiée par Tangpakdee et Tanaka ^[32]. Ces auteurs définissent ainsi deux types de macrogels : le macrogel physique (« soft-gel »), prédominant et structuré par des interactions faibles et

réversibles ; et le macrogel chimique (« *hard-gel* ») constitué de liaisons covalentes et irréversibles.

Ce macrogel physique peut être décomposé par des réactions spécifiques, telles que la déprotéination ou la transestérification ^[13]. En effet, la déprotéination par traitement enzymatique du latex est accompagnée d'une diminution importante de la quantité de macrogel de la gomme correspondante ^[32]. La réaction de transestérification réalisée par addition de méthanolate de sodium, permet de décomposer la totalité des groupements fonctionnels esters, essentiellement présents sur certains lipides du caoutchouc naturel. La transestérification d'une gomme préalablement déprotéinée entraîne alors une quasi-disparition du macrogel ^[32]. Tanaka *et al.* ^[13] mettent ainsi en avant le rôle de deux types de composés non-isoprènes dans la structuration du macrogel. Ces composés semblent être à l'origine de la totalité du macrogel physique, et font intervenir deux types d'interactions particulières. Les premières interactions sont facilement détruites par transestérification et concernent donc vraisemblablement des composés présentant des groupements fonctionnels esters, tels que les phospholipides liés de façon covalente à la macromolécule dans le modèle proposé par ces auteurs (Figure 6). Ces phospholipides seraient capables d'interagir entre eux pour former des structures micellaires ^[79], créant ainsi un premier type de nœuds de réticulation physique. Le second type d'interactions proposé fait intervenir les protéines du caoutchouc naturel. Les auteurs ont suggéré une association entre ces protéines et les groupements terminaux ω' des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène). Rappelons toutefois que la nature de ces groupements terminaux n'a pas encore été déterminée (Figure 6). La figure 9 présente le modèle proposé par Tanaka *et al.* ^[13] pour expliquer la structure du macrogel physique. La présence d'agrégats protéiques et de micelles constituées de phospholipides et d'acides gras dans des films préparés par évaporation d'une solution de caoutchouc naturel, est en accord avec ce modèle ^[80].

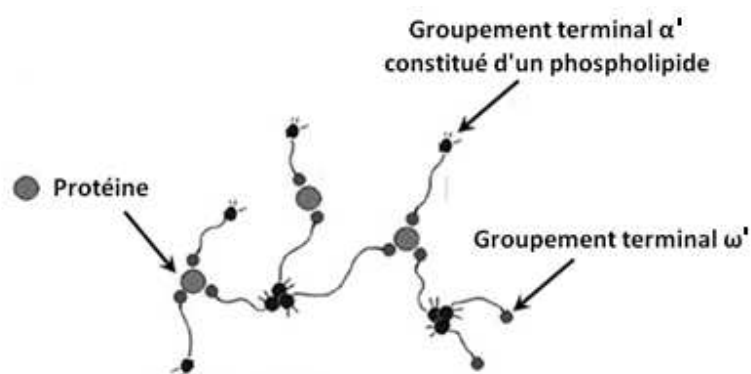


Figure 9. Structure du macrogel physique du caoutchouc naturel, proposée par Tanaka *et al.* ^[13].

La proportion de macrogel chimique (*hard-gel*) décrit par Tangpakdee et Tanaka ^[32], insensible à la déprotéination et à la transestérification, correspondrait à environ 5% du macrogel initialement présent dans leur échantillon. Des réactions radicalaires entre le poly(*cis*-1,4-isoprène) et le tétraméthylthiuram disulfure (TMTD), utilisé avec l'oxyde de zinc (ZnO) comme agent bactéricide dans le latex, pourraient être à l'origine des liaisons covalentes structurant ce macrogel chimique ^[48].

Le modèle précédent pourrait également être appliqué au microgel du caoutchouc naturel. En effet, la déprotéination d'une gomme entraîne également une diminution de la quantité de microagrégats les plus volumineux, sans impacter les microagrégats les moins volumineux, étudiés par Voznyakovskii *et al.* ^[73]. De la même façon, la quantité de Microgel_{>1μ} diminue sous l'effet de la transestérification ^[70]. Notons qu'Ehabe et Bonfils ^[70] ont mis en évidence la présence de Microgel_{>1μ} insensible au méthanolate de sodium (de 26 à 32% m/m, selon le clone étudié), qui ferait intervenir des interactions d'un autre type. La transestérification entraîne également une libération de chaînes courtes de poly(*cis*-1,4-isoprène), qui pourraient être impliquées dans la structure de la phase gel du caoutchouc naturel ^[53, 70].

Certains éléments minéraux présents sous la forme de cations divalents, tels que le magnésium (Mg²⁺) ^[81] ou le calcium (Ca²⁺) ^[82] pourraient également intervenir dans la structure du gel du caoutchouc naturel, par l'intermédiaire de liaisons ioniques. Tarachiwin *et al.* ^[81] ont montré que la concentration en cations Mg²⁺ pouvait légèrement impacter la quantité de macrogel mesuré. Le rôle des liaisons ioniques serait toutefois négligeable par rapport aux interactions physiques faisant intervenir les protéines et lipides du caoutchouc naturel. Rippel *et al.* ^[82] ont analysé la composition des différents gels du caoutchouc naturel par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (*EELS*). Les auteurs ont mis en avant le rôle prédominant du calcium dans les interactions à l'origine du microgel, par l'intermédiaire de liaisons ioniques entre les cations divalents (Ca²⁺) et des groupements carboxylates (RCOO⁻) ^[83]. Rippel *et al.* ^[82] ont également montré que le macrogel était constitué de microagrégats piégés dans une matrice moins dense, relativement riche en azote (protéines). Le macrogel pourrait donc être envisagé comme un réseau tridimensionnel constitué de microgel ^[84], dans lequel les protéines joueraient un rôle important. Toutefois, les concentrations en protéines importantes généralement mesurées dans le macrogel ^[57, 85, 86] ne permettent pas de tirer de conclusion quant à leur rôle dans la structure de ce dernier. En effet, les protéines sont des molécules insolubles dans les solvants organiques utilisés pour la quantification des taux de gels du caoutchouc naturel, et sont naturellement concentrées dans la fraction insoluble lors de l'étape de centrifugation.

Le durcissement au stockage du caoutchouc naturel, s'accompagne généralement d'une augmentation du taux de macrogel ^[51, 87, 88]. La mise en présence d'une gomme dans une atmosphère très anhydre (pentoxyde de phosphore, P_2O_5) permet d'accélérer le durcissement du matériau ^[76, 89]. Ngolemasango *et al.* ^[89] ont montré que le durcissement accéléré d'une gomme de grade TSR10 était accompagné d'une augmentation du taux de macrogel, et d'une diminution du taux de microgel, sans évolution significative de la quantité de $Gel_{>1\mu}$ et des paramètres mésostructuraux des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) en solution. Le macrogel formé durant le durcissement accéléré serait donc constitué uniquement de microagrégats présents initialement. Notons que le taux de macrogel d'une gomme transestérifiée n'évolue pas en présence de P_2O_5 ^[90]. De la même façon, l'augmentation du taux de macrogel durant le durcissement accéléré est moins marquée pour une gomme déprotéinée ^[90]. Les mécanismes mis en jeu dans la structuration du macrogel obtenu par durcissement accéléré seraient alors les mêmes que ceux intervenant lors du durcissement au stockage naturel d'une gomme ^[72] (Figure 9). Cette hypothèse semble toutefois contestable, le durcissement au stockage des gommes de caoutchouc naturel ayant été principalement attribué à la présence de groupements fonctionnels aldéhydes ^[51]. Notons que des chaînes macromoléculaires courtes pourraient également être impliquées dans la structure du gel formé par durcissement accéléré ^[87].

Ainsi, les composés non-isoprènes du caoutchouc naturel sont à l'origine de la structure associative du matériau. Les protéines, les lipides, et certains cations métalliques divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) structureraient la phase gel du caoutchouc naturel. Cependant, le rôle de chacun de ces composés n'a pas encore été clairement défini. On notera que le modèle proposé par Tanaka *et al.* ^[13], faisant intervenir des protéines et certains lipides au niveau des groupements terminaux ω' et α' des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) (Figure 9), sert de référence dans de nombreuses études scientifiques. Rappelons toutefois que ce modèle n'est basé que sur une étude du macrogel et des chaînes macromoléculaires de faibles masses molaires en solution. Le microgel et les chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) de masses molaires élevées ne sont en effet jamais considérés. De plus, ce modèle propose des interactions entre les protéines et le groupement terminal ω' qui n'a pas encore été identifié.

4. Relations entre la structure du caoutchouc naturel et ses propriétés mécaniques et rhéologiques

Le caoutchouc naturel présente des propriétés exceptionnelles, liées à sa mésostructure particulière ainsi qu'à la présence de composés non-isoprènes ^[91]. La dernière partie de cette synthèse bibliographique concerne l'influence de la composition et de la mésostructure du

matériau sur les propriétés mécaniques et rhéologiques des gommés de caoutchouc naturel non-vulcanisée.

4.1. Propriétés mécaniques et rhéologiques du caoutchouc naturel

De par sa structure associative, le caoutchouc naturel, matériau viscoélastique, présente des propriétés rhéologiques très différentes de celles du caoutchouc de guayule, ou des poly(*cis*-1,4-isoprènes) synthétiques ^[57, 92, 93]. Par exemple, la viscosité dynamique limite (η_0) d'un caoutchouc naturel est de l'ordre de 20 MPa.s, contre 0.7-3 MPa.s pour un poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse ^[93]. Le temps de relaxation après sollicitation du caoutchouc naturel est également plus important. Les propriétés mécaniques d'une gomme de caoutchouc naturel sont également meilleures que celles d'un poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (Figure 10). Les gommés naturelles présentent en effet des modules d'Young, et des résistances à la traction plus importants ^[13]. Les propriétés spécifiques du caoutchouc naturel ont notamment été attribuées à la présence de gel ^[94-96].

Dans l'usine du producteur, la caractérisation des propriétés rhéologiques du caoutchouc naturel passe généralement par des mesures simples et rapides de plasticité Wallace (P_0) et/ou de viscosité Mooney ($ML_{(1+4)}$). La plasticité Wallace permet d'évaluer la capacité d'une gomme à être mise en œuvre. Elle est calculée à partir de l'épaisseur résiduelle d'un disque de caoutchouc naturel mis en compression. La viscosité Mooney correspond au couple de torsion à appliquer pour mettre en rotation un disque métallique dans une chambre cylindrique remplie de caoutchouc naturel. Des corrélations significatives ont été mises en évidence entre la plasticité Wallace et la viscosité Mooney ^[92, 97]. Ces deux paramètres sont liés à la mésostructure des gommés étudiées, mais ne suffisent pas toujours pour discriminer des échantillons de caoutchouc naturel. En effet, des échantillons présentant des mésostructures très différentes peuvent avoir des valeurs de plasticité Wallace ^[98] ou de viscosité Mooney ^[7] identiques. D'autres outils, tels que le RPA (*Rubber process analyzer*) ^[99, 100] ou l'analyse thermomécanique dynamique (DMTA) ^[101], peuvent permettre de caractériser plus finement les propriétés rhéologiques d'un élastomère. Ces outils permettent de mesurer simultanément les modules de conservation (G') et de perte (G'') en sollicitant le matériau en cisaillement.

4.2. Influence des composés non-isoprènes

Les protéines et les lipides du caoutchouc naturel, ont une influence sur les propriétés mécaniques du matériau non-vulcanisé. En effet, la déprotéination ^[102] et la transestérification ^[13] entraîne des diminutions du module d'Young et de l'allongement à la rupture de la gomme étudiée (Figure 10). Un échantillon ayant subi ces deux traitements présente des propriétés mécaniques comparables à un poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse. La déprotéination entraîne

également une diminution des modules de conservation (G') et de perte (G'') en cisaillement du matériau ^[72, 103]. Ces résultats viennent appuyer le modèle proposé par Tanaka *et al.* ^[13] dans lequel les protéines et les phospholipides seraient impliqués dans la structure associative du caoutchouc naturel (Figure 9). La destruction des nœuds de réticulation physique entraîne ainsi une dégradation des propriétés mécaniques et rhéologiques du caoutchouc naturel ^[102]. La structure associative du caoutchouc naturel aurait également un rôle important dans le phénomène de cristallisation sous contrainte ^[104, 105].

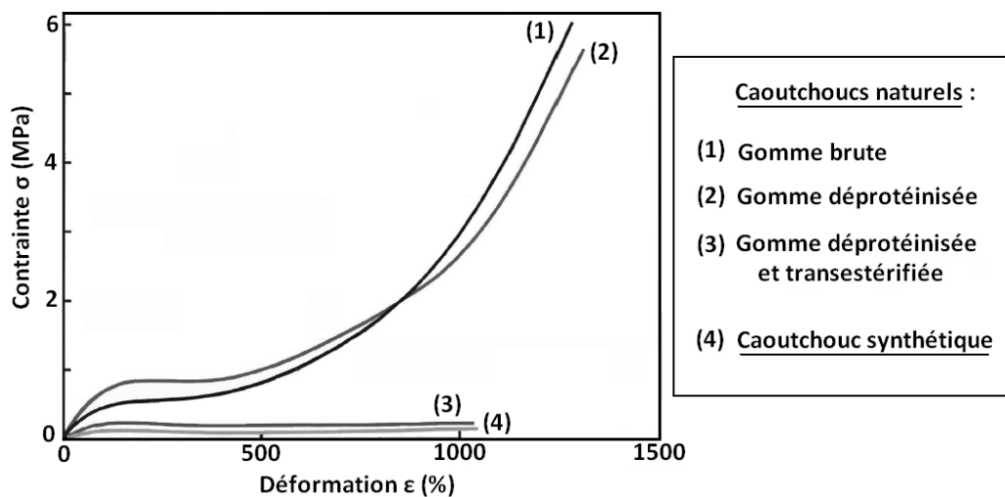


Figure 10. Effet de la déprotéination et de la transestérification sur les propriétés mécaniques d'un caoutchouc naturel ^[13].

4.3. Relation avec la mésostructure

4.3.1. *Rôle des chaînes macromoléculaires*

La mésostructure du caoutchouc naturel influence les propriétés du matériau. La masse molaire moyenne en poids (M_w) des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) gouverne par exemple la valeur de plasticité Wallace (P_0). Li *et al.* ^[87] ont montré une corrélation entre la plasticité et la masse molaire moyenne en poids (M_w) pour des gommages ayant subi un durcissement accéléré sous atmosphère de P_2O_5 . Bonfils *et al.* ^[98] ont confirmé cette corrélation pour des gommages brutes non vieilles, en soulignant toutefois une influence de l'origine clonale et du grade de l'échantillon. Deux gommages différentes présentant des longueurs de chaînes équivalentes peuvent ainsi montrer des valeurs de plasticité très différentes.

De la même façon, la viscosité Mooney ($ML_{(1+4)}$) d'un élastomère peut très souvent être reliée à ses masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) ^[106]. Dans le cas du caoutchouc naturel, Kim *et al.* ^[7] ont montré une influence des masses molaires moyennes sur

les viscosités Mooney d'échantillons de grade TSR5CV, mesurées à des vitesses de rotation différentes. La viscosité Mooney mesurée à 2 tours/min est notamment corrélée à la masse molaire moyenne en nombre (M_n), tandis que la viscosité Mooney mesurée à une vitesse de rotation de 0.05 tour/min est plutôt corrélée à la masse molaire moyenne en poids (M_w) des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène). Une relation de la forme $[ML_{(0.05 \text{ tour/min})} = a.M_w.(I^{-1/2}) + b]$ a ainsi été proposée et fait intervenir l'indice de polydispersité (I) du polymère ^[7].

4.3.2. Influence de la phase gel sur les propriétés du caoutchouc naturel

La présence de nœuds de réticulation physique et chimique, tout comme les chaînes latérales pour les polymères branchés, peuvent impacter les propriétés viscoélastiques d'un polymère ^[107]. La phase gel du caoutchouc naturel influence ainsi les propriétés du matériau ^[13]. Par exemple, le taux de macrogel présent dans une gomme de caoutchouc naturel a montré une influence sur sa viscosité Mooney ^[72], ainsi que sur le temps de relaxation du matériau après des essais de traction ^[95]. De la même façon, l'incorporation de macrogel de caoutchouc naturel dans un polyisoprène synthétique permettrait d'en augmenter la viscosité Mooney ^[86].

Après séparation par centrifugation et séchage, le macrogel et la fraction soluble d'une gomme présentent des propriétés mécaniques et rhéologiques très différentes. Par exemple, la plasticité Wallace (P_0) d'une fraction soluble dépourvue de macrogel, serait jusqu'à 30% plus faible que celle de la gomme brute dont elle est issue ^[57]. De la même façon, un macrogel isolé présente des modules de relaxation en cisaillement plus importants que la fraction soluble correspondante, la gomme brute montrant des propriétés intermédiaires ^[57, 94]. Ainsi, certaines propriétés physiques du caoutchouc naturel seraient liées à la présence de macrogel. Les microagrégats présents dans la fraction soluble du matériau auraient également une influence sur ses propriétés, et pourraient être assimilées à des charges. En effet, la filtration d'une fraction soluble permet de réduire la quantité de microagrégats, et conduit notamment à une diminution des modules de relaxation en cisaillement, après séchage ^[94].

Ainsi, les taux de macrogel et de microgel auraient tous deux une influence sur les propriétés mécaniques et rhéologiques du matériau. Ehabe *et al.* ^[96, 108] ont notamment observé une corrélation entre le taux de $Gel_{>1\mu}$ et le temps de relaxation de gommes de caoutchouc naturel, après des mesures de viscosité Mooney.

4.3.3. Représentation Cole-Cole

Très répandue dans le domaine des matériaux diélectriques ^[109, 110], la représentation Cole-Cole est encore peu utilisée en rhéologie. Cette représentation, qui consiste à étudier l'évolution du module de perte en cisaillement (G'') en fonction du module de conservation (G'), peut être utilisée afin de déterminer graphiquement certains paramètres décrits par le modèle

proposé par Perez ^[111]. Ce modèle donne une expression du module de cisaillement complexe (G^* , Eq. 1) et introduit des paramètres (K , K' et Q) liés à la structure du polymère. Dans ce modèle, le paramètre K' est notamment gouverné par la densité de nœuds de réticulation au sein du matériau considéré, ou par la quantité de charges présentes.

$$G^* = G' + iG'' = G_C + \frac{G_L - G_C}{1 + Q(i\omega\tau_{mr})^{-K'} + (i\omega\tau_{mr})^{-K}} \quad (\text{Eq. 1})$$

- G^* : Module de cisaillement complexe ;
 G' et G'' : Module de conservation et de perte ;
 G_L et G_C : Module avant et après relaxation ;
 τ_{mr} : Temps de relaxation moléculaire ;
 K , K' et Q : Paramètres liés à la structure du polymère.

La représentation Cole-Cole a été utilisée pour étudier les propriétés rhéologiques de quelques matériaux polymères. Par exemple, l'étude de copolymères butadiène-acrylonitrile (*NBR*) a notamment mis en évidence une influence du taux de gel présent dans ces gommessynthétiques, sur leurs propriétés rhéologiques ^[112]. De la même façon, Nait-Ali *et al.* ^[113] ont observé une diminution progressive de la valeur du paramètre K' , lors de la réduction du degré de réticulation chimique d'un polyéthylène téréphtalate (*PET*) par dégradation mécanique.

Ainsi, les propriétés mécaniques et rhéologiques du caoutchouc naturel sont étroitement liées à la mésostructure de l'échantillon. Les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des chaînes macromoléculaires influent sur ces propriétés. Une gomme dont les masses molaires moyennes sont relativement élevées, présentera par exemple une plasticité Wallace (P_0) et une viscosité Mooney ($ML_{(1+4)}$) importantes. La phase gel du caoutchouc naturel a également une influence sur ces propriétés. Les composés non-isoprènes étant vraisemblablement impliqués dans la structure associative du caoutchouc naturel, les réactions spécifiques de déprotéination et de transestérification entraînent généralement une dégradation des propriétés du matériau brut. L'étude de la phase gel du caoutchouc naturel, dont la structure n'a pas encore été clairement définie, pourrait donc mener à une meilleure compréhension des propriétés rhéologiques du matériau. Cela permettrait également d'appréhender différemment les problèmes de variabilité de cet élastomère d'origine naturelle, qui génèrent des difficultés lors de la seconde transformation.

METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE

Ces travaux de thèse se sont articulés autour de deux principaux axes de recherche (Figure 11). Dans un premier temps, l'intérêt a été porté sur l'influence de la phase gel sur les propriétés rhéologiques de gommes de caoutchouc naturel non-vulcanisées (Chapitre 2). Une sélection de 25 échantillons fabriqués dans le cadre du projet CANAOPT a été caractérisée afin de mettre en évidence de possibles corrélations entre leur mésostructure et leurs propriétés rhéologiques. Le deuxième axe de recherche est basé sur une caractérisation physicochimique des macrogels et des fractions solubles d'une seconde sélection de 11 échantillons (Chapitre 3). La composition, la structure et les propriétés rhéologiques de chacune des fractions isolées ont notamment été étudiées. La principale difficulté concernait la mesure des propriétés rhéologiques des macrogels, présents en faible quantité (~ 5% m/m) dans les échantillons étudiés. Afin de mener à bien ce travail, une phase de développement méthodologique a permis de mettre au point différents protocoles permettant par exemple d'extraire des quantités importantes de macrogel, ou bien de caractériser les propriétés physicochimiques des différents échantillons considérés. Les trois principales méthodes de caractérisation développées durant ces travaux, permettant d'étudier la composition, la mésostructure et les propriétés rhéologiques d'échantillons de caoutchouc naturel sont développées dans le premier chapitre de ce manuscrit.

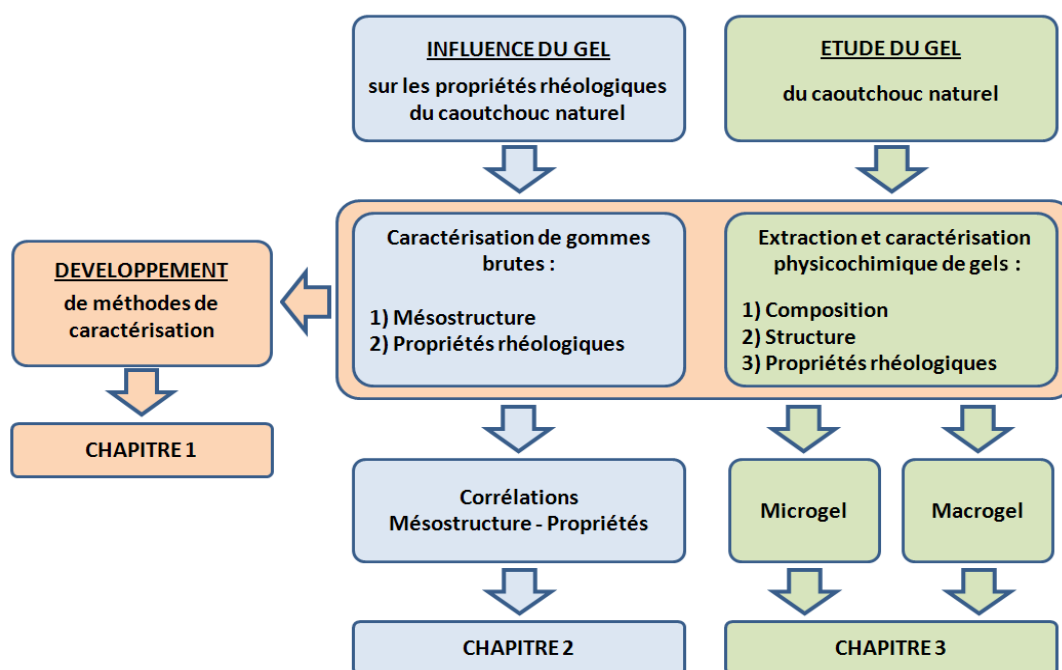


Figure 11. Stratégie de recherche adoptée durant ces travaux de thèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. MATÉRIEL

1.1. Echantillons de caoutchouc naturel

Les gommés de caoutchouc naturel utilisées dans ces travaux de thèse (Tableau 2), ont été fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT, dans quatre pays différents : l'Indonésie (IN), la République de Côte d'Ivoire (RCI), la Thaïlande (TH) et le Vietnam (VN).

Trois grades différents (TSR10, TSR10CV et TSR3CV) ont été étudiés (Figure 12). Concernant les échantillons de grade TSR3CV, le latex est d'abord filtré et coagulé à l'acide. Les coagulums correspondants sont usinés immédiatement, après un temps de maturation court (< 1 jour). Au contraire, les grades TSR10 et TSR10CV sont obtenus à partir de latex coagulés naturellement, sous l'action des microorganismes. Avant usinage, les coagulums correspondants subissent un temps de stockage de plusieurs semaines. Un traitement chimique au sulfate d'hydroxylamine (SHA) permet de stabiliser les propriétés des échantillons de grade TSR3CV et TSR10CV.

Les échantillons ont été fabriqués à partir de latex de huit clones différents (Tableau 2). Les clones les plus plantés à l'heure actuelle (GT1, RRIM600 et PB235) sont représentés. Le tableau 2 détaille les paramètres contrôlés par Jérôme Sainte-Beuve (CIRAD) et Jean-Luc Merceron (MFP Michelin) lors de la fabrication des échantillons.

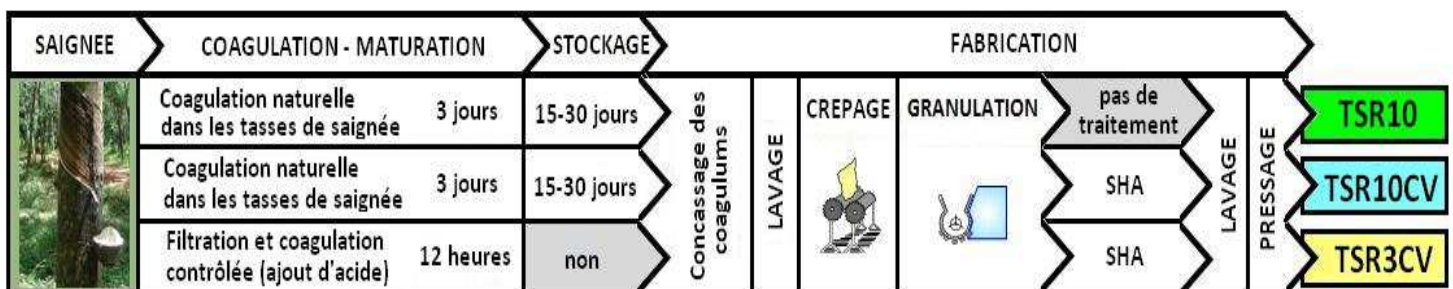


Figure 12. Procédés de fabrication des grades TSR10, TSR10CV et TSR3CV.

Tableau 2. Gommages de caoutchouc naturel fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT, et utilisées dans ces travaux de thèse.

| Echantillon | Grade | Clone | Pays | Date de fabrication | Saison | Plantation | Age de l'arbre | Saignée | Maturation (jours) | Stockage (jours) | Ajout de SHA | Procédé |
|-------------|---------|---------|------|---------------------|--------|------------|----------------|---------|--------------------|------------------|--------------|-------------------------|
| CA3CVINP01 | TSR3CV | PB260 | IN | 11/2012 | P | PI | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVINP02 | TSR3CV | RRIM921 | IN | 11/2012 | P | PI | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVINP03 | TSR3CV | PB217 | IN | 11/2012 | P | PI | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVINP04 | TSR3CV | PB260 | IN | 11/2012 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVINP05 | TSR3CV | PB217 | IN | 11/2012 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVINP06 | TSR3CV | PB260 | IN | 11/2012 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVINP07 | TSR3CV | PB217 | IN | 11/2012 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVTHP01 | TSR3CV | RRIM600 | TH | 11/2012 | P | PV | V | D | 1 | 0 | x | SHA + Peptisant |
| CA3CVTHP02 | TSR3CV | RRIM600 | TH | 11/2012 | P | PV | V | D | 1 | 0 | x | SHA + Peptisant |
| CA3CVTHP03 | TSR3CV | RRIM600 | TH | 11/2012 | P | PV | V | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVTHP04 | TSR3CV | RRIM600 | TH | 11/2012 | P | PV | J | D | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVTHP05 | TSR3CV | RRIT251 | TH | 11/2012 | P | PV | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVTHP06 | TSR3CV | RRIT251 | TH | 11/2012 | P | PV | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP01 | TSR3CV | GT1 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R/D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP02 | TSR3CV | PB235 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R/D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP03 | TSR3CV | GT1 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVVNP04 | TSR3CV | PB235 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R/D | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVVNP05 | TSR3CV | PB235 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R/D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP06 | TSR3CV | PB235 | VN | 11/2011 | P | PI | J | D | 1 | 0 | x | SHA + Peptisant |
| CA3CVVNP07 | TSR3CV | GT1 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R/D | 1 | 0 | x | SHA + Surséchage |
| CA3CVVNP08 | TSR3CV | RRIV4 | VN | 11/2011 | P | PI | J | D | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP09 | TSR3CV | PB235 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA |
| CA3CVVNP10 | TSR3CV | GT1 | VN | 11/2011 | P | PI | V | R | 1 | 0 | x | SHA |
| CA10CIP01 | TSR10 | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | J | D | 2 | 15 | | Extrudeuse |
| CA10CIP02 | TSR10 | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | J | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP08 | TSR10 | PB235 | RCI | 01/2012 | S | PI | V | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP11 | TSR10 | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PV | J | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP16 | TSR10 | GT1 | RCI | 05/2012 | P | PI | J | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP17 | TSR10 | PB235 | RCI | 05/2012 | P | PI | V | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP18 | TSR10 | GT1 | RCI | 05/2012 | P | PV | J | D | 2 | 29 | | Shredder |
| CA10CIP21 | TSR10 | GT1 | RCI | 09/2012 | M | PI | J | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP22 | TSR10 | PB235 | RCI | 09/2012 | M | PI | V | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CIP23 | TSR10 | GT1 | RCI | 09/2012 | M | PV | J | D | 3 | 28 | | Shredder |
| CA10THP01 | TSR10 | RRIM600 | TH | 05/2013 | P | PV | V | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10THP03 | TSR10 | RRIM600 | TH | 05/2013 | P | PV | V | D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10VNP01 | TSR10 | GT1 | VN | 09/2013 | P | PI | V | R/D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10VNP03 | TSR10 | PB235 | VN | 09/2013 | P | PI | V | R/D | 2 | 15 | | Shredder |
| CA10CVCIP03 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | J | D | 2 | 15 | x | Extrudeuse + Aspersions |
| CA10CVCIP04 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | J | D | 2 | 15 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP05 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | J | D | 2 | 15 | x | Shredder + Immersion |
| CA10CVCIP06 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | V | R | 2 | 15 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP07 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PI | V | R | 2 | 15 | x | Shredder + Immersion |
| CA10CVCIP09 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PV | V | R | 2 | 30 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP10 | TSR10CV | PB235 | RCI | 01/2012 | S | PI | V | D | 2 | 30 | x | Shredder + Immersion |
| CA10CVCIP12 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PV | J | D | 2 | 30 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP13 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PV | J | D | 2 | 30 | x | Shredder + Immersion |
| CA10CVCIP14 | TSR10CV | PB235 | RCI | 01/2012 | S | PI | V | D | 2 | 15 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP15 | TSR10CV | GT1 | RCI | 01/2012 | S | PV | V | R | 2 | 30 | x | Shredder + Immersion |
| CA10CVCIP19 | TSR10CV | GT1 | RCI | 05/2012 | P | PV | J | D | 2 | 29 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVCIP20 | TSR10CV | GT1 | RCI | 05/2012 | P | PV | V | D | 2 | 29 | x | Shredder + Aspersions |
| CA10CVVNP02 | TSR10CV | GT1 | VN | 09/2013 | P | PI | V | R/D | 2 | 15 | x | Dryprebreaker |
| CA10CVVNP04 | TSR10CV | PB235 | VN | 09/2013 | P | PI | V | R/D | 2 | 15 | x | Dryprebreaker |

Pays IN : Indonésie ; RCI : République de Côte d'Ivoire ; TH : Thaïlande ; VN : Vietnam.

Saison P : Saison des pluies ; S : Saison sèche ; M : intermédiaire.

Plantation PI : Plantation industrielle ; PV : Plantation villageoise.

Age de l'arbre J : Jeune (< 15 ans de saignée) ; V : Vieux (> 15 ans de saignée).

Saignée D : Descendante ; R : Remontante.

Nomenclature CA(NAOPT) – Grade de TSR (3CV, 10 ou 10CV) – Pays (IN, CI, TH ou VN) – P+Numéro de la gomme.

CA 3CV VN P08 : TSR3CV fabriquée au Vietnam durant le projet CANAOPT.

1.2. Produits

La liste des produits chimiques utilisés dans ces travaux de thèse est fournie dans le tableau 3.

Tableau 3. Liste des produits chimiques utilisés.

| Nom | Abréviation | Fabricant | Pays |
|---|----------------------|-----------------------------------|-----------|
| γ -tocotriénol | | Cayman Chemicals | USA |
| β -sitostérol | | Larodan | Suède |
| Acide acétique | | Merck | Allemagne |
| Acide oléique | C18:1 | Larodan | Suède |
| Acide nitrique 68% | HNO ₃ 68% | Carlo Erba Reagents | Italie |
| Acide stéarique | C18:0 | Fluka | Allemagne |
| Albumine de sérum bovin | BSA | Sigma-Aldrich | Allemagne |
| Bromure de tétrabutylammonium | TBABr | Aldrich | Allemagne |
| Hydroxytoluène butylé | BHT | Panreac | Espagne |
| Chloroforme anhydre | CHCl ₃ | Sigma-Aldrich | Allemagne |
| Chlorure de sodium | NaCl | Labosi | France |
| Colle cyanoacrylate (SuperGlue) | | Loctite ; Henkel | Allemagne |
| Cyclohexane | | Carlo Erba Reagents | Italie |
| Dodécylsulfate de sodium | SDS | Rectapur-VWR | France |
| Eau ultrapure | | Fisher scientifique (SCP Science) | USA |
| Etalons pour ICP-MS : <ul style="list-style-type: none"> • Multi-éléments (QC1) 100 ppm • Indium (In) 1000 ppm • Soufre (S) 1000 ppm • Phosphore (P) 1000 ppm • Potassium (K) 1000 ppm | | PlasmaCAL (SCP Science) | Canada |
| Ether diéthylique | | Carlo Erba Reagents | Italie |
| Hexane | | Carlo Erba Reagents | Italie |
| Méthanol | MeOH | Sigma-Aldrich | Allemagne |
| Poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique Nipol IR2200 | IR2200 | ZEON Chemicals | USA |
| Stéarate de cholestérol | | Larodan | Suède |
| Stéarate de méthyle | | Sigma-Aldrich | Allemagne |
| Tétrahydrofurane | THF | Sigma-Aldrich | Allemagne |
| Trioléine | | Larodan | Suède |

2. MÉTHODES

2.1. Mise en forme des échantillons

L'homogénéisation des gommages de caoutchouc naturel a été réalisée avant chaque utilisation, sur un mélangeur à cylindres (BLERE I.F. 50 #1400, modèle 51/64). La

température des cylindres a été fixée à 27°C et l'espacement entre les cylindres à 1,69 mm. Les cylindres avant et arrière ont été mis en rotation à des vitesses respectives de 24 et 34 tours/min. La gomme à homogénéiser est ensuite passée six fois entre les cylindres, selon les normes ISO 1795 et ISO 2393.

Des plaques P_0 présentant des épaisseurs moyennes de 1,6 mm, ont également été préparées par laminage d'échantillons homogénéisés, sur le même mélangeur à cylindres. La température des cylindres a été fixée à 27°C et l'espacement entre les cylindres à 0,5 mm (valeur minimale). Les cylindres avant et arrière ont été mis en rotation à des vitesses respectives de 27,5 et 38,5 tours/min. La gomme à laminier est ensuite passée trois fois entre les cylindres, selon les normes ISO 1795 et ISO 2393.

2.2. Caractérisation de la mésostructure des échantillons

La figure 13 présente le protocole retenu pour caractériser la mésostructure des gommages de caoutchouc naturel dans cette thèse. Pour chaque gomme considérée, trois solutions (A, B et C) de caoutchouc naturel à 0,3% (m/v) sont préparées par dissolution de 90 mg de matériau dans 30 mL de THF stabilisé avec 250 mg/L de BHT et filtré à 200 nm. La mise en solution est suivie par gravimétrie (Balance de précision à 10^{-5} g, Genius, Sartorius), afin de déterminer précisément la concentration C_1 de la solution préparée. Les solutions sont ensuite maintenues à l'abri de la lumière pendant 7 jours dans un bain-marie thermostaté à 30°C, et sont agitées 1 h/jour à partir du deuxième jour de mise en solution. Le septième jour, une étape de centrifugation à 33000 g (Centrifuge Avanti J-E, Beckman Coulter ; Rotor JA-20 ; 16500 tours/min) pendant 1 h à 20°C, permet de séparer le macrogel et la fraction soluble de chaque solution. La fraction soluble surnageante est diluée 3 fois, immédiatement filtrée à 1 μ m (Acrodisc 1 μ m, Pall France) et injectée en chromatographie d'exclusion stérique couplée à un détecteur de diffusion de la lumière multi-angle (SEC-MALS). Le tube de centrifugation, contenant le macrogel de la solution, est placé sous hotte jusqu'à évaporation du solvant. Le séchage des tubes est finalisé durant 2 h à 30°C dans une étuve sous vide, puis 30 min dans un dessiccateur. Le taux de macrogel est ensuite déterminé par gravimétrie.

La ligne SEC-MALS est composée d'une pompe Shimadzu LC20AD, d'un jeu de colonnes de SEC maintenues à 45°C, d'un réfractomètre Optilab T-rEX (Wyatt technology) et d'un détecteur de diffusion de la lumière multi-angle (Dawn DSP, Wyatt technology). Du THF stabilisé avec 250 mg/L de BHT et filtré à 200 nm est utilisé comme phase mobile, à un débit de 0,35 mL/min. Le volume de solution injectée est de 50 μ L. Les deux colonnes (Styragel HMW6E THF et HT6E THF, 20 μ m, 4,6x300 mm, Waters) et la pré-colonne (PLgel, 20 μ m, 7,5x50 mm, Agilent) utilisées (Colonnes B) sont préalablement conditionnées avec une solution de TBABr à 0,3% (m/v) dans du THF stabilisé, durant une semaine en circuit fermé composé uniquement d'une pompe (515 HPLC Pump, Waters). Le débit utilisé est de 0,35

mL/min. Après 7 jours de conditionnement, les colonnes sont installées sur le circuit SEC-MALS, dans lequel circule du THF stabilisé. Les injections débutent après une période de stabilisation des colonnes de 12 h (Figure 13). Afin de prendre en compte les problèmes de répétabilité rencontrés en SEC-MALS en mode TBABr, les trois solutions (A, B et C) préparées à partir de chacun des échantillons de caoutchouc naturel, ne sont pas injectées successivement (Figure 14).

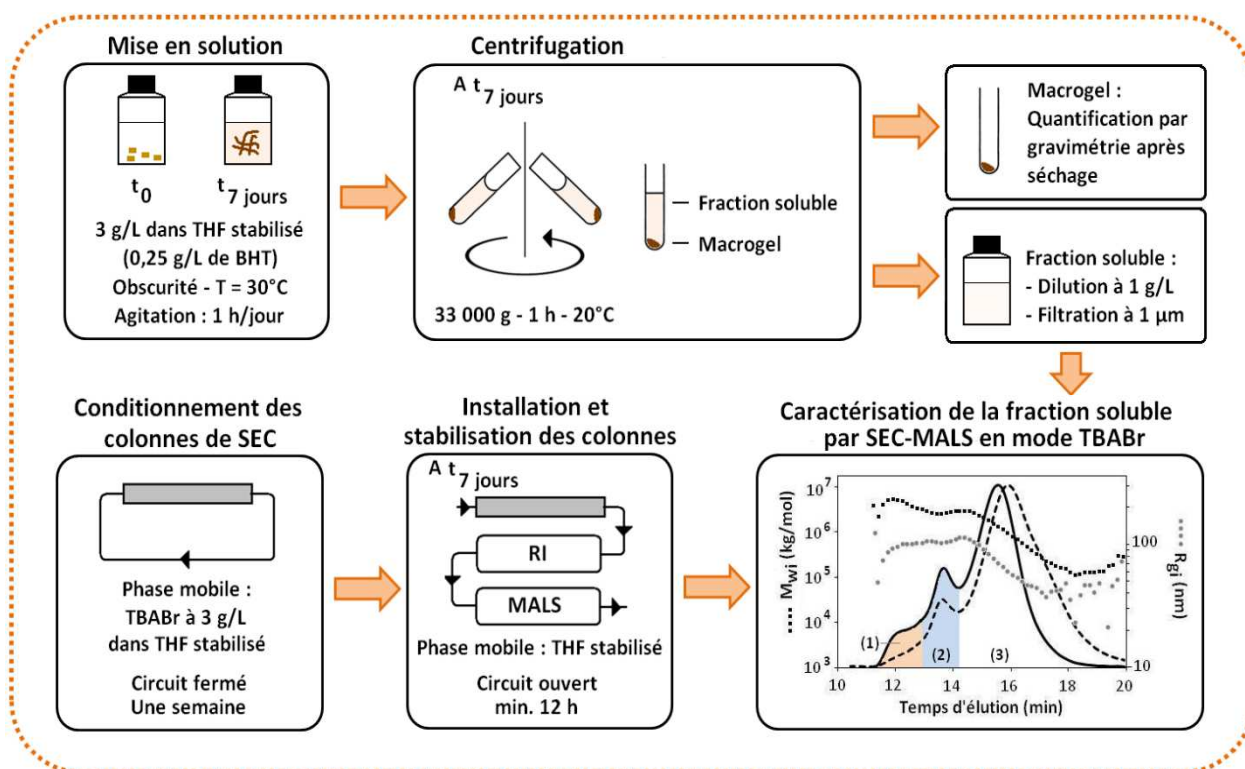


Figure 13. Protocole de caractérisation de la mésostructure des gommages de caoutchouc naturel.

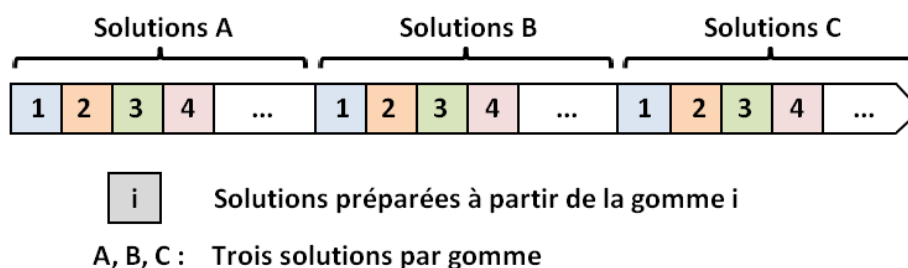


Figure 14. Ordre des injections réalisées en SEC-MALS en mode TBABr.

Dans ces travaux de thèse, un jeu de colonnes non conditionnées (Colonnes A : 2 x PLgel Mixed A-LS, $20\ \mu\text{m}$, $7,5 \times 300\ \text{mm}$, Agilent) a également été utilisé. Avec ces colonnes, le débit de la phase mobile (THF stabilisé à 250 mg/L et filtré à 200 nm) est de 0,65 mL/min et le volume injecté est de 100 μL .

Les masses molaires moyennes en poids ($M_{w,i}$) et les rayons de giration ($R_{g,i}$) des macromolécules sont calculés pour chaque temps d'élution, en utilisant la méthode de Berry (Ordre 2) sur le logiciel ASTRA (V. 5.3.4, Wyatt technology). Douze angles compris entre $38,8^\circ$ (Angle 5) et $138,8^\circ$ (Angle 16) sont utilisés pour le calcul. Les bornes utilisées lors de l'intégration sont : [10 min ; 20 min] pour l'ensemble du chromatogramme, [10 min ; 13,7-14,2 min] pour la fraction de microagrégats de tailles inférieures à $1\ \mu\text{m}$ ($\text{Microgel}_{<1\mu}$), [13,7-14,2 min ; 20 min] pour les pelotes statistiques. La valeur de l'incrément d'indice de réfraction (dn/dc) utilisée dans le calcul est de $0,130\ \text{mL/g}$ à $633\ \text{nm}$ ^[114].

La quantité de gel éliminée durant les étapes de centrifugation et de filtration à $1\ \mu\text{m}$, noté « $\text{Gel}_{>1\mu}$ », est calculée à partir de la différence entre la concentration C_1 de la solution préparée et la concentration C_2 de la solution injectée en SEC-MALS (Eq. 2). La quantité de microagrégats retenus lors de la filtration des solutions ($\text{Microgel}_{>1\mu}$) correspond à la différence entre le taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ et le taux de Macrogel, déterminé par gravimétrie (Eq. 3). Le « Gel total » prend en compte le taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$, mais également le taux de microagrégats de tailles inférieures à $1\ \mu\text{m}$ ($\text{Microgel}_{<1\mu}$) déterminé par SEC-MALS (Bornes [10 min ; 13,7-14,2 min]) (Eq. 4).

$$\text{Gel}_{>1\mu}(\%) = (C_1 - 3 \times C_2) / C_1 \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Microgel}_{>1\mu}(\%) = \text{Gel}_{>1\mu}(\%) - \text{Macrogel}(\%) \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\text{Gel total}(\%) = \text{Gel}_{>1\mu}(\%) + \text{Microgel}_{<1\mu}(\%) \quad (\text{Eq. 4})$$

2.3. Caractérisation des microagrégats du caoutchouc naturel

2.3.1. Préparation d'une solution de microagrégats

Une solution de $\text{Microgel}_{<1\mu}$ a été préparée par SEC-MALS avec des colonnes de SEC (Colonnes B) conditionnées avec une solution de TBABr à 0,3% (m/v) dans du THF stabilisé et filtré à 200 nm. Un collecteur de fraction CHF100SA (Advantec) permet de récupérer la fraction éluant sur l'intervalle [10 min ; 13 min], constituée de microagrégats de tailles inférieures à $1\ \mu\text{m}$.

2.3.2. Caractérisation par microscopie électronique en transmission (TEM)

L'étude menée en microscopie électronique en transmission (TEM) a été réalisée au Centre de Ressources en Imagerie Cellulaire (CRIC, Montpellier) sur un microscope Hitachi 125 H-7100, à une tension d'accélération de 75 kV.

Dans un premier temps, 5 μL de la solution de Microgel_{<1 μ} sont déposés sur une grille de TEM. Après évaporation du solvant (THF stabilisé) sous hotte aspirante, quatre autres dépôts successifs de 5 μL ont été réalisés, afin d'augmenter le nombre de particules déposées sur la grille de TEM. Après séchage du dernier dépôt sous hotte aspirante, la grille de TEM est mise en présence d'une solution d'acétate d'uranyle à 1% dans l'eau, pendant 5 min à température ambiante. La grille est ensuite rincée à l'éthanol, séchée puis étudiée en TEM.

2.3.3. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les distributions des diamètres hydrodynamiques des particules en suspension dans la solution de Microgel_{<1 μ} et dans la fraction soluble filtrée à 1 μm correspondante, ont été mesurées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) avec un Malvern Autosizer 4700 (Laser He-Ne, $\lambda = 633 \text{ nm}$, Malvern Instruments). Les mesures ont été réalisées à un angle de 90°, sur des solutions placées dans des cuves en quartz à 25°C. Chaque solution a fait l'objet de trois mesures indépendantes, chacune correspondant à la moyenne de 10 acquisitions.

2.4. Protocole d'extraction des macrogels

Une gomme de caoutchouc naturel homogénéisée est mise en solution à 0,5% (m/v) dans 2 L (Flacon Duran) de THF stabilisé avec 250 mg/L de BHT et filtré à 200 nm. La solution est maintenue à l'abri de la lumière, dans un bain-marie thermo-régulé à 30°C pendant 5 jours, et agitée quotidiennement. Le cinquième jour, la solution est centrifugée à 30100 g (Centrifuge Avanti J-E, Beckman Coulter ; Rotor JA-14 ; 14000 tours/min) pendant 30 min à 20°C. Le solvant de la fraction soluble surnageante est évaporé, sous hotte aspirante. Le macrogel gonflé est récupéré dans un flacon Duran de 500 mL, et remis en solution dans 3 fois son volume de THF stabilisé et filtré durant 2 jours supplémentaires, dans un bain-marie thermo-régulé à 30°C, à l'abri de la lumière. La solution est ensuite centrifugée dans les mêmes conditions. Le macrogel est récupéré dans un flacon Duran de 500 mL, lavé avec 100 mL d'une solution aqueuse de SDS 5% (m/v) puis lavé trois fois avec 100 mL d'eau ultrapure. Après évaporation du solvant sous hotte aspirante, la fraction soluble et le macrogel sont séchés 2 h à 30°C dans une étuve sous vide. Le taux de macrogel extrait est ensuite déterminé par gravimétrie.

2.5. Caractérisation de la composition des échantillons

2.5.1. Dosage d'azote

Des dosages d'azote ont été réalisés selon la méthode Dumas, par l'unité « Analyses des eaux, sols et végétaux » (US49) du CIRAD, afin de quantifier les protéines et polypeptides présents dans les échantillons. Les prises d'essai utilisées sont de l'ordre de 600 mg pour les gommages de caoutchouc naturel brutes, de 200 mg pour les macrogels, et de 1200 mg pour

les fractions solubles étudiées. Trois mesures indépendantes ont été réalisées pour chaque échantillon.

Après homogénéisation, la prise d'essai est finement découpée puis pesée dans une feuille d'étain. L'échantillon est ensuite calciné à 1100°C sous un flux d'oxygène. Les gaz de combustion subissent une série de piégeage permettant d'éliminer les poussières, les composés halogénés, la vapeur d'eau et les oxydes de carbone. Une réduction sur colonne de cuivre, à 700°C sous un flux d'hélium, permet de réduire les oxydes d'azote en gaz N₂. La teneur en azote est ensuite déterminée par catharométrie avec un analyseur TruMac N (LECO), dont la calibration est préalablement réalisée avec des substances contenant des taux d'azote connus (e.g. EDTA, Glycine).

2.5.2. Protéines extractibles

Les extractions de protéines présentées dans le troisième chapitre de ce manuscrit ont été réalisées par Céline Bottier (CIRAD, Kasetsart University, Bangkok, Thaïlande).

Environ 30 mg de matériau finement découpés aux ciseaux, sont placés dans 1 mL d'une solution de Laemmli 1X, et laissés 60 h sur un portoir rotatif. Les protéines de l'extrait protéique sont ensuite séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE). 60 µL d'une solution constituée de 60 µL d'extrait protéique et de 20 µL d'une solution de Laemmli 4X, sont ainsi déposés dans un puits du gel SDS-PAGE. Après migration (20 mA, 90 min), les bandes protéiques sont révélées avec une solution de bleu de Coomassie (éthanol 40% v/v, acide acétique 10% v/v, Bleu de Coomassie R250 0,1% v/v).

2.5.3. Compositions lipidiques

2.5.3.1. Extractions lipidiques

Les extractions lipidiques ont été réalisées selon le protocole développé par Liengprayoon *et al.* ^[24]. Trois extractions indépendantes ont été réalisées pour chacun des échantillons considérés, à l'exception des macrogels pour lesquels les prises d'essai importantes n'ont permis qu'une seule extraction.

Dans un premier temps, environ 2,8 g d'échantillon homogénéisé et découpé en petits morceaux d'environ 2 x 2 mm, sont broyés sous azote liquide (Linde Gaz) dans un cryobroyeur (Vibratory Micro Mill PULVERISETTE 0, Frisch GmbH, Allemagne) puis placés dans 50 mL d'un mélange chloroforme:méthanol (2:1 ; v/v), durant 6 h à température ambiante, sous agitation contrôlée (150 tours/min). La solution est ensuite filtrée pour éliminer le caoutchouc délipidé, qui est séché et pesé (m_1). Le solvant présent dans le filtrat est évaporé par évaporateur rotatif. L'extrait obtenu (m_2) est redissous dans 4 mL de chloroforme:méthanol (2:1 ; v/v). L'ajout de 1 mL d'une solution aqueuse de NaCl à 0,9% (m/v) permet d'éliminer les composés hydrophiles co-extraits avec les lipides du caoutchouc

naturel. Après décantation, la phase organique contenant les lipides est isolée et mise à évaporer sous un flux d'azote. Après séchage, la quantité de lipides récupérée (m_3) permet de calculer l'extrait lipidique de l'échantillon (Eq. 5).

$$\text{Extrait lipidique (\%)} = m_3 / (m_1 + m_2) \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

m_1 : Masse de caoutchouc délipidé récupéré après extraction.

m_2 : Masse de l'extrait total.

m_3 : Masse de l'extrait lipidique.

Les valeurs d'extraits lipidiques utilisées dans la figure 22 (Chapitre 1) ont été mesurées par Siriluck Liengprayoon (LBTNR, Kasetsart University, Bangkok, Thaïlande) dans le cadre du projet CANAOPT. Les autres extractions lipidiques mentionnées dans ce manuscrit ont été réalisées par moi-même, dans le cadre de ces travaux de thèse. La comparaison des deux séries de mesures (Tableau 4) illustre la très bonne reproductibilité du protocole développé par Liengprayoon *et al.* [24].

Tableau 4. Extraits lipidiques mesurés au LBTNR (Bangkok, Thaïlande) et au CIRAD (Montpellier, France), pour cinq gommes de caoutchouc naturel du projet CANAOPT.

| Echantillon | Pays | Grade | Clone | Extraits lipidiques (% m/m) | |
|-------------|------|---------|-------|-----------------------------|-------------|
| | | | | Bangkok | Montpellier |
| CA3CVINP03 | IN | TSR3CV | PB217 | 3,46 (2%) | 3,57 (4%) |
| CA3CVVNP02 | VN | TSR3CV | PB235 | 3,73 (1%) | 3,76 (5%) |
| CA3CVVNP03 | VN | TSR3CV | GT1 | 3,13 (1%) | 3,18 (1%) |
| CA10CIP08 | RCI | TSR10 | PB235 | 2,93 (1%) | 3,08 (2%) |
| CA10CVCIP13 | RCI | TSR10CV | GT1 | 2,10 (5%) | 2,11 (5%) |

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

2.5.3.2. Caractérisation de l'extrait lipidique par CCM

Les lipides neutres des extraits lipidiques obtenus ont ensuite été caractérisés par chromatographie sur couche mince (CCM). Chacun des extraits lipidiques est redissous à 2 mg/mL dans du chloroforme. 5 µL de solution sont ensuite déposées de façon automatisée (CAMAG Automatic TLC Sampler4) sur une plaque CCM (Silica gel 60 F254 TLC plate, 100x200 mm, Merck). L'élution des lipides neutres est réalisée dans un mélange hexane:éther diéthylique:acide acétique (80:20:1 ; v/v) dans une chambre automatisée (CAMAG Automatic Developing Chamber ADC 2). La révélation est réalisée en plaçant la plaque CCM dans une solution aqueuse saturée en acétate de cuivre, contenant de l'acide phosphorique 40% (1:1 ; v/v). La plaque CCM est ensuite séchée sous hotte aspirante puis placée dans une étuve à 180°C durant 10 min. Les concentrations en lipides neutres sont mesurées à l'aide d'un densitomètre (CAMAG TLC Scanner3), et de droites d'étalonnage obtenues à partir de lipides étalons (β -sitostérol, acide oléique, γ -tocotriénol, trioléine et stéarate de cholestérol).

2.5.4. Eléments minéraux

2.5.4.1. Analyses ICP-MS

La minéralisation des échantillons à caractériser par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) a été réalisée dans les laboratoires de l'unité « Analyses des eaux, sols et végétaux » (US49) du CIRAD. Pour chaque échantillon laminé, trois solutions S1 sont préparées en plaçant environ 400 mg de matériau dans 10 mL d'une solution ultrapure d'acide nitrique (HNO_3) à 68%. La minéralisation est réalisée dans un four microonde (CEM Mars5), durant trois cycles successifs : 1) 30 min à 140°C ; 2) 30 min à 170°C ; puis 3) 30 min à 190°C. Les solutions sont dégazées après chaque cycle. Après l'étape de minéralisation, le volume des solutions S1 est ajusté à 10 mL avec la solution ultrapure d' HNO_3 68%. Les solutions S2 sont préparées par dilution à 1/34 des solutions S1 dans de l'eau ultrapure. Les solutions S3 sont préparées par dilution à 1/20 des solutions S2 dans une solution d' HNO_3 2%.

Les solutions S2 et S3 sont ensuite analysées à l'aide d'un spectromètre ICP-MS Thermo Scientific XSERIES 2 (Thermo Fisher Scientific, Germany), équipé d'un kit d'ajout d'étalon interne. Ce kit injecte simultanément une solution d'indium (^{115}In , 10 ppb dans une solution d' HNO_3 2%) à un débit de 236 $\mu\text{L}/\text{min}$, avec la solution à analyser. Les concentrations de magnésium (^{24}Mg), de phosphore (^{31}P), de potassium (^{39}K), de calcium (^{44}Ca), de titane (^{48}Ti), de fer (^{56}Fe) et de zinc (^{64}Zn) sont mesurées en utilisant la cellule de collision en mode CCT1 (Gaz de collision : He/H_2 93%/7% ; débit : 4,5 mL/min). Le mode CCT2 de la cellule de collision (Gaz de collision : O_2 ; débit : 0,05 mL/min) permet de déterminer les concentrations de soufre (^{32}S) des solutions, en quantifiant les espèces présentant un rapport masse sur charge (m/z) de 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ ou ^{48}Ti), comme proposé par Bandura *et al.* [115]. Un étalonnage est réalisé à partir de solutions étalons contenant des concentrations en analytes comprises entre 0 et 400 ppb préparées dans de l'acide nitrique à 2%. Trois injections différentes sont réalisées pour chacune des solutions préparées.

2.5.4.2. Caractérisation par MEB-EDX

La surface de certaines plaques préparées par laminage a été caractérisée par Microscopie Electronique à Balayage couplée à de la spectroscopie d'Energie Dispersive des rayons X (MEB-EDX) dans les laboratoires du Centre des Matériaux des Mines d'Alès (C2MA, Pôle MPA). Les analyses ont été réalisées avec un microscope électronique à balayage (MEB) environnemental FEI Quanta 200 FEG, équipé d'un microanalyseur EDX OXFORD Incan350 Energy, sous vide poussé et à température ambiante. Avant chaque analyse, un film fin de carbone (~ 10 nm) est déposé sur la surface considérée, afin de rendre les échantillons conducteurs et d'éviter toute dégradation causée par le faisceau électronique. Le faisceau d'électrons rétrodiffusés (Mode BSE, *backscattered electrons*) permet de localiser les éléments chimiques lourds sur la surface étudiée. Des microanalyses EDX permettent de déterminer la nature des éléments présents dans les zones d'intérêt. La composition

moyenne des plaques étudiées a également été estimée par spectroscopie EDX, à partir de trois mesures indépendantes, réalisées sur des surfaces de 1,96 mm² (1,40 x 1,40 mm).

2.6. Analyses spectroscopiques

2.6.1. *Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)*

2.6.1.1. Acquisition des spectres FT-IR

L'acquisition des spectres infrarouges d'échantillons laminés est réalisée à l'aide du logiciel OPUS 7.0 (Bruker) sur un spectromètre Tensor27 (Bruker), équipé d'une plateforme ATR (*Réflexion Totale Atténuée*), sur la gamme 4000-400 cm⁻¹ et avec une résolution de 2 cm⁻¹ (Tableau 5). Un blanc est réalisé avant chaque nouvel échantillon. Pour chaque échantillon, cinq spectres sont enregistrés sur cinq zones différentes de sa surface. Chaque spectre est obtenu à partir de 16 mesures successives.

Tableau 5. Spécificités du spectromètre FT-IR utilisé et détails des mesures.

| Spectromètre infrarouge utilisé | |
|---|---|
| <i>Modèle</i> | Tensor27 (Bruker) |
| <i>Détecteur</i> | DTGS (<i>Sulfate de triglycine deutéré</i>) Détecteur pyroélectrique |
| Plateforme ATR (Attenuated Total Reflection) | |
| <i>Cristal</i> | Diamant |
| <i>Angle d'incidence du faisceau lumineux</i> | 45° |
| Conditions de mesure | |
| <i>Logiciel d'acquisition des spectres</i> | OPUS 7.0 (Brüker) |
| <i>Domaine de mesure</i> | 4000-400 cm ⁻¹ |
| <i>Résolution</i> | 2 cm ⁻¹ |
| <i>Nombre d'acquisitions par blanc</i> | 16 |
| <i>Nombre d'acquisitions par spectre</i> | 16 |

Concernant le traitement des spectres, une compensation H₂O/CO₂ permet dans un premier temps de compenser les bandes de vibration causées par les conditions atmosphériques, dans la région 2400-1800 cm⁻¹ notamment. La ligne de base est ensuite soustraite en utilisant la méthode de « correction élastique » du logiciel (notée également « *rubber-band correction method* »). Les spectres sont ensuite exportés sous Excel (Microsoft Office), et normalisés par l'absorbance maximale de la bande présente à 840 cm⁻¹ (Eq. 6), correspondant à la déformation angulaire hors du plan de la liaison =C-H du monomère *cis*-1,4-isoprène (Tableau 7).

$$\text{Absorbance normalisée } (\nu) = \frac{\text{Absorbance mesurée } (\nu)}{\text{Absorbance maximale de la bande à } 840 \text{ cm}^{-1}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Les absorbances maximales normalisées des bandes à 1745 cm⁻¹ (Esters), 1711 cm⁻¹ (Carboxyles), 1630 cm⁻¹ (Bande amide I) et 1541 cm⁻¹ (Bande amide II) donnent ensuite des

informations sur les quantités de certains lipides (composés estérifiés et acides gras libres) et de protéines présents dans les échantillons.

2.6.1.2. Préparation de mélanges étalons

Afin d'obtenir des droites d'étalonnage pour le dosage des groupements fonctionnels esters (1745 cm^{-1}) et carboxyles (1711 cm^{-1}), et des liaisons peptidiques (1630 & 1541 cm^{-1} : bandes amides I & II), trois séries de mélanges étalons ont été préparées par incorporation d'additifs commerciaux dans un poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (Nipol IR2200). Les mélanges A, B et C ont ainsi été préparés par ajout de stéarate de méthyle, d'acide stéarique et d'albumine de sérum bovin (BSA), respectivement (Tableau 6).

Tableau 6. Composition des mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique.

| Mélanges | Poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) synthétique | Additif | Concentrations incorporées | | |
|----------|--|---------------------|----------------------------|------------------|--|
| | | | Additif (% m/m) | Azote (% m/m) | Liaisons carbonyles (mmol.kg ⁻¹) |
| A | Nipol IR2200 | Stéarate de méthyle | 0 – 2,1 | - | 0 – 70 |
| B | Nipol IR2200 | Acide stéarique | 0 – 2,3 | - | 0 – 80 |
| C | Nipol IR2200 | BSA | 0 – 10 | 0 – 1,6 | - |

Les mélanges ont été préparés sur le mélangeur à cylindres décrit précédemment (BLERE I.F. 50 #1400, modèle 51/64), selon la norme ISO 1658:2009. L'espacement entre les cylindres a été fixé à 0,5 mm, et leur température à 50°C. Les cylindres avant et arrière ont été mis en rotation à des vitesses respectives de 24 et 34 tours/min. Chaque mélange a été plastifié pendant une durée totale comprise entre 6 et 8 minutes. Dans un premier temps, un mélange maître contenant de l'IR2200 homogénéisé et une concentration élevée d'additif a été préparé. Des mélanges présentant des concentrations en additifs plus faibles ont ensuite été obtenus par dilution du mélange maître dans de l'IR2200 homogénéisé. Un échantillon d'IR2200, sans additif, a également été plastifié dans les mêmes conditions.

2.6.2. **Résonance magnétique nucléaire (RMN)**

Des analyses en RMN du solide (^1H et ^{13}C) ont été effectuées à l'Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM), sur un spectromètre Bruker Avance III 300 MHz, avec une sonde VTN 4 mm double canaux (H-X), à une vitesse de rotation à l'angle magique (MAS, $54,7^\circ$) de 5 kHz. Les échantillons de caoutchouc naturel sont d'abord finement découpés aux ciseaux, puis introduits dans un rotor (cellule de mesure) de 4 mm de diamètre ($V = 100\text{ }\mu\text{L}$). Le rotor est ensuite mis en rotation dans la sonde, à température ambiante.

Les spectres mesurés en polarisation croisée (CP) ^1H - ^{13}C ont été obtenus à partir de 12K mesures pour les gommages brutes et les fractions solubles, et 3K mesures pour les échantillons de macrogel. Durant le traitement des spectres RMN ^{13}C CP-MAS, un fenêtrage exponentiel de $10 \pi \text{ s}^{-1}$ a été appliqué dans le cadre de l'étude des pics correspondants aux molécules isoprène rigides (cristallins), et à $100 \pi \text{ s}^{-1}$ dans le cadre de l'étude du signal C=O (172 ppm). Les déplacements chimiques sont calculés par rapport au tétraméthylsilane (TMS).

2.7. Structure des macrogels : Mesure des taux de gonflement

Des mesures de taux de gonflement ont été réalisées sur les différents macrogels extraits, afin d'en déterminer le degré de structuration, à partir de l'équation de Flory-Rehner ^[116]. Trois mesures indépendantes ont été réalisées pour chacun des macrogels étudiés.

Une prise d'essai d'environ 60 mg de macrogel sec (m_0) est mise en solution à 0,2% m/v dans 30 mL de THF stabilisé et filtré. La solution est placée 8 jours à l'abri de la lumière, dans un bain-marie thermo-régulé à 30°C. Le huitième jour, le macrogel est isolé de la fraction soluble à l'aide d'une spatule ; l'étape de centrifugation est évitée afin de ne pas modifier le taux de gonflement de l'échantillon. Le macrogel gonflé est placé dans un pilulier préalablement taré puis pesé ($m_{\text{MG gonflé}}$). Le pilulier est placé sous hotte aspirante pendant un jour pour évaporation du THF, puis séché 2 h à 30°C dans une étuve sous vide et 30 min dans un dessiccateur. Le pilulier est ensuite pesé afin de déterminer la masse de macrogel sec ($m_{\text{MG sec}}$). La perte de masse mesurée après séchage ($m_{\text{MG gonflé}} - m_{\text{MG sec}}$) correspond à la quantité de THF présente dans le macrogel gonflé (m_{THF}). Le calcul du taux de gonflement Q_{PI} de la fraction de poly(*cis*-1,4-isoprène) du macrogel est détaillé dans le troisième chapitre de ce manuscrit.

2.8. Mesure des propriétés rhéologiques

Les propriétés rhéologiques des échantillons étudiés dans ces travaux de thèse ont été mesurées par analyse thermomécanique dynamique (DMTA) en double cisaillement, sur des éprouvettes cylindriques (Figure 15).

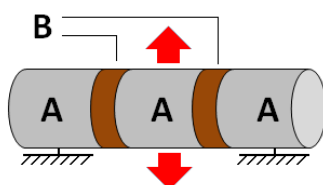


Figure 15. Eprouvette cylindrique permettant la mesure des propriétés rhéologiques des gommages de caoutchouc naturel, en double cisaillement sur DMTA. Trois plots métalliques cylindriques (A) et deux pastilles d'un même échantillon de caoutchouc naturel (B) sont utilisés dans la confection de l'éprouvette.

2.8.1. Confection des éprouvettes cylindriques

L'échantillon est d'abord homogénéisé et laminé selon les conditions définies précédemment. La plaque obtenue possède une épaisseur d'environ 1,6 mm. Une plaque plus épaisse est préparée par superposition de trois plaques de 1,6 mm, afin d'obtenir in fine, des épaisseurs supérieures à 3 mm sur les éprouvettes finales. Des pastilles de 12 mm de diamètre sont ensuite découpées dans la plaque, à l'aide d'un emporte-pièce Wallace. Deux pastilles sont nécessaires pour fabriquer une éprouvette cylindrique.

Le collage des pastilles sur des plots métalliques cylindriques est réalisé avec une colle cyanoacrylate commerciale (SuperGlue, Loctite), à l'aide d'un module dédié (Figure 16), prêté par la société ANVIS, dans le cadre de ces travaux. Les plots métalliques utilisés mesurent 14,1 mm de longueur et 10,0 mm de diamètre.

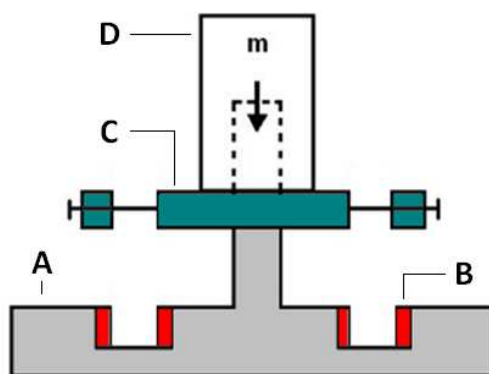


Figure 16. Schéma du module de préparation des éprouvettes cylindriques, prêté par la société ANVIS. Le dispositif est composé : A) d'un plateau inférieur constitué d'un axe central et de deux encoches permettant de placer les plots métalliques ; B) de deux cylindres creux permettant de stabiliser les plots métalliques ; C) d'un plateau supérieur comportant un dispositif de serrage ; D) d'un poids de 5,5 kg creux, se plaçant sur l'axe central du plateau inférieur.

Afin de mieux répartir la charge lors du collage, il est nécessaire de fabriquer deux éprouvettes simultanément (Figure 17). Dans un premier temps (t_1), deux pastilles (A) d'un même échantillon sont collées entre les plots métalliques 1 et 2, sous charge (5,5 kg) durant 5 minutes. Ensuite (t_2), le plateau supérieur est retourné, et deux autres pastilles (B) sont collées entre les plots métalliques 2 et 3, dans les mêmes conditions. Après collage, les éprouvettes sont laissées au repos, en position verticale durant 24 h. Enfin, les pastilles utilisées ayant un diamètre de 12 mm, et les plots métalliques un diamètre de 10 mm, le surplus de matière est éliminé à l'aide d'un touret à meule. Trois éprouvettes de mesure sont fabriquées pour chaque échantillon à analyser.

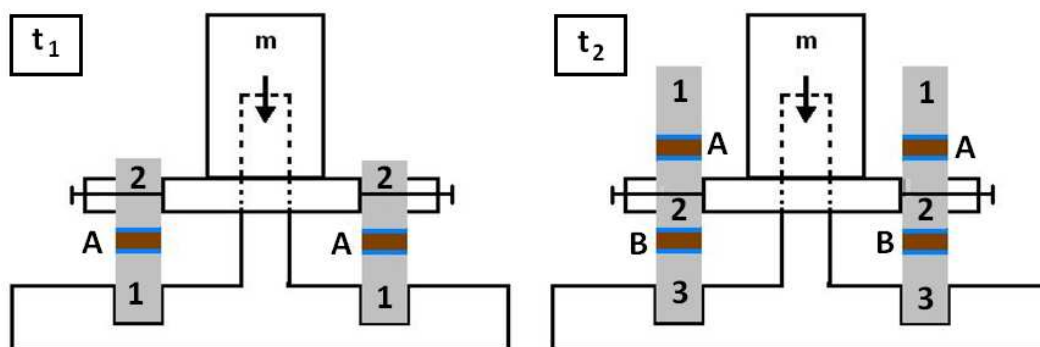


Figure 17. Schéma de confection des éprouvettes de mesure des propriétés rhéologiques en double cisaillement par DMTA.

2.8.2. Analyse thermomécanique dynamique

Les propriétés rhéologiques des échantillons utilisés dans la confection des éprouvettes cylindriques sont ensuite mesurées en cisaillement sur une Tritec 2000B (Triton Technology Ltd), en position horizontale (Figure 18). Une fois l'éprouvette installée sur la DMTA, sa longueur est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse, afin de déterminer l'épaisseur finale des pastilles. Il a été montré qu'en deçà de 3 mm, les propriétés rhéologiques mesurées sont fonction de l'épaisseur des pastilles étudiées. L'épaisseur moyenne des pastilles permet de calculer le taux de déformation (%) associé à un déplacement (mm) du plot métallique central. Dans cette géométrie, seul le plot métallique central est sollicité horizontalement, les plots périphériques étant fixes (Figure 18).

Les propriétés rhéologiques des échantillons sont ensuite mesurées dans le domaine linéaire à 2% de déformation, et à 100°C. Trois balayages en fréquence successifs (10^{-2} – 50 Hz) sont réalisés pour chacune des éprouvettes confectionnées. Les propriétés rhéologiques (G' , G'' et $\tan\delta$) fournies par le logiciel à une fréquence particulière correspondent à la moyenne des trois mesures. Trois éprouvettes indépendantes sont analysées pour chacun des échantillons considérés.

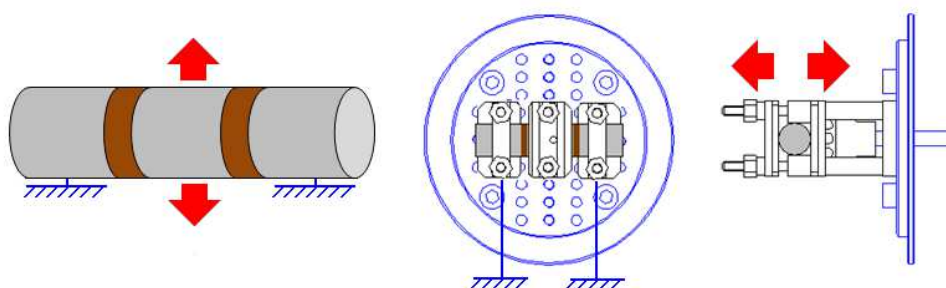


Figure 18. Montage des éprouvettes cylindriques sur la Tritec 2000B.

2.9. Tomographie X

La recherche de bulles dans les pastilles utilisées dans la confection des éprouvettes cylindriques a fait l'objet d'une étude en tomographie X, au Centre de Recherche de la société Hutchinson. Un tomographe Nanotom 180 (General Electric) et le logiciel Avizo Fire (FEI) ont été utilisés pour ces travaux.

2.10. Analyses statistiques

Le logiciel JMP 8.0 (SAS Institute) a été utilisé pour le traitement statistique des résultats obtenus durant cette thèse.

CHAPITRE 1

Développements méthodologiques

L'étude des gommes de caoutchouc naturel fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT, mais également des fractions solubles et des macrogels correspondants, nécessite l'utilisation d'outils de caractérisation adaptés. Un certain nombre d'outils ont été mis en place durant cette thèse. Les phases de développement méthodologique des trois principales techniques employées dans ces travaux, sont détaillées dans ce premier chapitre. Ces trois méthodes permettent une caractérisation de la composition, de la mésostructure, ainsi que des propriétés rhéologiques du matériau étudié.

La première méthode développée concerne la quantification de certains composés non-isoprènes (lipides, protéines) du caoutchouc naturel par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) en réflexion totale atténuée (ATR). Il s'agit d'un outil permettant d'apprécier la composition des échantillons étudiés, qui pourrait rapidement devenir une alternative aux méthodes de caractérisation conventionnelles telles que les dosages d'azote ou les extractions lipidiques, généralement très chronophages. Cette nouvelle méthode de caractérisation a notamment fait l'objet d'une publication dans la revue *Polymer Testing* ^[117].

La deuxième méthode abordée concerne la caractérisation de la mésostructure du caoutchouc naturel. Kim *et al.* ^[74] ont mis en évidence la possibilité de séparer les microagrégats et les pelotes statistiques de la fraction soluble du caoutchouc naturel, lors d'une analyse en chromatographie d'exclusion stérique (SEC) par un conditionnement préalable des colonnes avec une solution contenant un sel d'ammonium quaternaire. La poursuite de ces travaux est détaillée dans ce chapitre.

Enfin, une méthode de caractérisation des propriétés rhéologiques par analyse thermomécanique dynamique (DMTA), des gommes brutes mais également des fractions solubles et insolubles isolées après extraction, est présentée dans la troisième partie de ce chapitre.

1. Caractérisation de la composition du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR

Les protéines (~ 2,0% m/m) et les lipides (1,5 – 3,0% m/m) ^[17, 18] présents dans le caoutchouc naturel sont généralement quantifiés par des analyses chimiques conventionnelles. Par exemple, la quantification de l'azote permet d'estimer le taux de

protéines d'une gomme ^[32]. Les atomes d'azote non portés par les protéines, très minoritaires, sont alors négligés. D'autre part, le protocole développé par Liengprayoon *et al.* ^[24] permet de quantifier le taux de lipides extractibles. L'extrait lipidique obtenu peut être étudié par diverses méthodes chromatographiques afin de caractériser les trois classes de lipides présents : les lipides neutres (83 – 86%) contenant notamment les acides gras libres, les glycolipides (10 – 12%) et les phospholipides (4%) ^[26]. Dans chaque cas, l'analyse de ces composés non-isoprènes implique des méthodes destructives et chronophages. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) en configuration ATR s'est révélée être un outil puissant pour estimer rapidement les quantités de lipides et de protéines présents dans les gommages de caoutchouc naturel.

1.1. Description qualitative des spectres infrarouges

Les spectres infrarouges de 46 gommages de caoutchouc naturel fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT, ainsi que d'un poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique de référence (Nipol IR2200) ont été comparés. Les mesures ont été réalisées sur des plaques préparées par laminage, présentant une bonne homogénéité et un état de surface satisfaisant pour une étude en réflexion totale atténuée. La figure 19 présente les spectres de la gomme CA3CVVNP02 (TSR3CV, PB235), et de l'IR2200. Les bandes de vibration ont été attribuées en accord avec la littérature (Tableau 7). Toutes les échantillons de caoutchouc naturel étudiés présentent les mêmes bandes que l'IR2200 sur les intervalles 3100-2000 cm^{-1} et 1500-400 cm^{-1} . Ces bandes de vibration communes ont été attribuées aux différentes liaisons carbone-carbone et carbone-hydrogène du poly(*cis*-1,4-isoprène). La bande de vibration présente à 840 cm^{-1} sur les spectres des caoutchoucs naturels, et à 834 cm^{-1} sur le spectre du caoutchouc synthétique, a notamment été attribuée à la déformation angulaire hors du plan (« *out-of-plane bending* ») de la liaison $=(\text{C-H})$ du monomère *cis*-1,4-isoprène. Cette bande a été sélectionnée pour la normalisation de l'ensemble des spectres infrarouges ; les autres bandes de vibration correspondant à des liaisons C-C ou C-H pouvant également être retrouvées sur certains composés non-isoprènes. Des bandes de vibration présentes uniquement sur les spectres des caoutchoucs naturels, ont été attribuées à certains composés non-isoprènes, absents de la composition de la gomme synthétique de référence. Cinq bandes de vibration correspondant aux groupements fonctionnels amines (3283 cm^{-1}), esters (1748-1738 cm^{-1}), carboxyles (1711 cm^{-1}) et amides (1630 cm^{-1} : amide I ; 1541 cm^{-1} : amide II) ont ainsi été mises en évidence. Les bandes amides I et II sont spécifiques aux liaisons peptidiques et donc aux protéines présentes dans le caoutchouc naturel. Les groupements fonctionnels esters et carboxyles sont quant à eux principalement présents sur les lipides du caoutchouc naturel.

Tableau 7. Attribution des bandes de vibration mesurées pour les différents échantillons de caoutchouc naturel et pour le poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique IR2200.

| Nombre d'onde (cm ⁻¹) | | # | Attribution | Références |
|-----------------------------------|--------|-----------|--|--------------------------|
| NR | IR2200 | Figure 19 | | |
| 3283 | - | 1 | ν N-H (<i>Protéines</i>) | [85, 118] |
| 3036 | 3037 | | ν C=C-H | [119] |
| 2961 | 2960 | | ν asym. -CH ₃ | [85, 119, 120] |
| 2928 | 2926 | | ν asym. -CH ₂ - | [119, 120] |
| 2912 | 2914 | | ν sym. -CH ₃ | [119] |
| 2851 | 2852 | | ν sym. -CH ₂ - / ν sym. -CH ₃ | [119, 120] |
| 2725 | 2726 | | Harmonique de δ asym. -CH ₃ | [121] |
| 1748-1738 | - | 2 | ν R ₁ -(C=O)-O-R ₂ (<i>Lipides</i>) | [85, 122] |
| 1711 | - | 3 | ν R ₁ -(C=O)-OH (<i>Lipides</i>) | [85] |
| 1663 | 1664 | | ν C=C | [85, 119, 120, 122, 123] |
| 1630 | - | 4 | Amide I : ν R ₁ -(C=O)-NH-R ₂ (<i>Protéines</i>) | [85, 124] |
| 1541 | - | 5 | Amide II : β N-H + ν C-N (<i>Protéines</i>) | [85, 123, 124] |
| 1447 | 1446 | | δ -CH ₂ - + ρ -CH ₃ | [85, 119, 120, 122, 123] |
| 1377 | 1375 | | δ asym. -CH ₃ | [85, 119, 120, 122, 123] |
| 1361 | 1360 | | δ asym. -CH ₃ | [119] |
| 1310 | 1308 | | δ sym. -CH ₃ | [119] |
| 1288 | 1288 | | β C=C-H | [119] |
| 1246 | 1241 | | ν sym. C-O-C + τ -CH ₂ - | [122, 125] |
| 1208 | 1206 | | ω -CH ₂ - | [119] |
| 1128 | 1127 | | ν C-C + ω -CH ₂ - | [119] |
| 1090 | 1084 | | τ -CH ₂ - | [119] |
| 1040 | 1038 | | ρ -CH ₃ | [119] |
| 1009 | 1010 | | ν C-C | [119] |
| 984 | 984 | | τ C=C | [119] |
| 930 | 929 | | ν C-C | [119] |
| 889 | 889 | | ω -CH ₃ | [119] |
| 872 | - | | ν asym. C-O-C ; ν C-O-O-C | [122, 125, 126] |
| 840 | 834 | | γ C=C-H (<i>monomère cis-1,4-isoprène</i>) | [85, 119, 120, 122, 123] |
| 764 | 763 | | <i>non identifiée</i> | |
| 741 | 740 | | ρ -CH ₂ - | [119] |
| 567 | 570 | | β C-C-C | [119] |
| 490 | 490 | | β C-C-C | [119] |

Modes de vibration :

ν : Elongation (*stretching*)

β et γ : Déformation angulaire (*Bending*) dans le plan (β) et hors du plan (γ)

ω : Hochement (*Wagging*)

ρ : Rotation plane (*Rocking*)

τ : Torsion (*Twisting*)

δ : Déformation – (a)sym. : (a)symétrique.

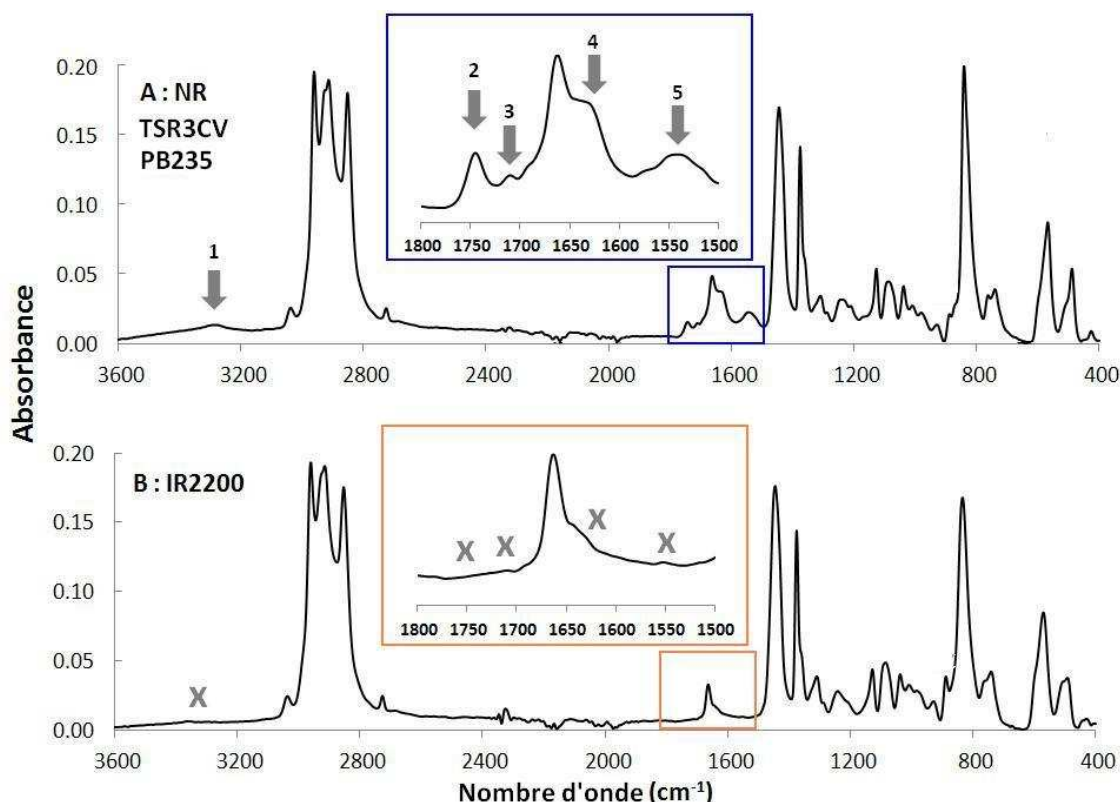


Figure 19. Spectres infrarouges d'un caoutchouc naturel (A : CA3CVVNP02, TSR3CV, PB235) et d'un poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (B : IR2200).

1.2. Déconvolution des spectres infrarouges

Un spectre IR correspond à la superposition des différentes bandes de vibration du matériau étudié. Ces bandes de vibration peuvent être modélisées par des gaussiennes, répondant ainsi à l'équation Eq. 7.

$$f(x) = a \times \exp\left(-\frac{(x-b)^2}{2c^2}\right) + d \quad (\text{Eq. 7})$$

- a : fréquence (en cm⁻¹) de vibration maximale de la liaison ;
- b : absorbance maximale de la bande de vibration ;
- c : mi-largeur à mi-hauteur de la bande de vibration ;
- d : absorbance minimale à la base de la gaussienne.

La région comprise entre 1800 et 1500 cm⁻¹ des spectres IR des gommages de caoutchouc naturel est particulièrement intéressante car elle présente au moins quatre bandes de vibration caractéristiques de groupements fonctionnels présents uniquement sur certains composés non-isoprènes (lipides et protéines). Un essai de déconvolution de cette région a donc été réalisé sur deux gommages présentant des bandes esters (Figure 20A) et carboxyles très intenses (Figure 20B), afin de déterminer précisément l'aire de chacune des bandes d'intérêt. Ce travail de déconvolution permet, dans un premier temps, d'identifier

des bandes totalement recouvertes sur les spectres initiaux. Par exemple, la bande amide II (1540 cm^{-1}) est composée de plusieurs bandes de vibration différentes correspondant aux liaisons C-N (élongation) et N-H (déformation angulaire) ^[124]. Notons également la présence d'une bande de vibration à 1690 cm^{-1} (Figure 20), correspondant probablement à l'élongation de la liaison carbonyle des groupements aldéhydes ^[127]. Un léger épaulement est visible à cette fréquence sur les spectres initiaux (Figure 21).

Ce premier traitement semble également indiquer que les bandes de vibration principales ne subissent aucun recouvrement. Par exemple, l'absorbance maximale de la bande à 1663 cm^{-1} n'est a priori attribuable qu'à l'élongation de la liaison C=C (Figure 20). Or, les échantillons présentant des bandes amides I (1630 cm^{-1}) intenses, présentent également des bandes intenses à 1663 cm^{-1} (Figure 20A). Les absorbances à 1663 et 1630 cm^{-1} semblent donc liées, traduisant un recouvrement des bandes plus important que celui calculé par déconvolution. Il pourrait ainsi exister d'autres solutions de déconvolution de la région $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, faisant intervenir des gaussiennes moins intenses dont le recouvrement serait plus important. Le calcul des aires des gaussiennes obtenues étant influencé par la méthode de déconvolution des spectres, il semble préférable de travailler uniquement avec les absorbances maximales des bandes d'intérêt pour la suite de l'étude. L'intégration de vallée à vallée, de chacune des bandes d'intérêt, a également été envisagée.

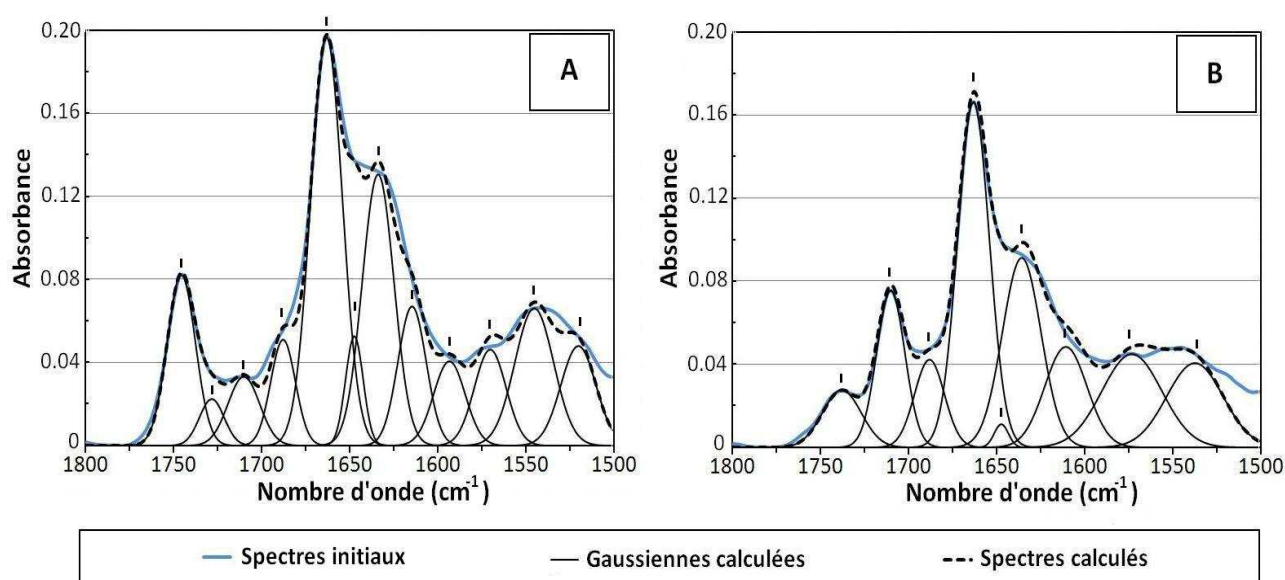


Figure 20. Déconvolution de la région $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ des spectres infrarouges de gommages de caoutchouc naturel contenant des bandes esters (A : CA3CVVNP02, TSR3CV, PB235) et carboxyles (B : CA10CIP08, TSR10, PB235) très intenses.

1.3. Caractérisation des lipides du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR

1.3.1. Description qualitative

Deux bandes de vibration sont présentes entre 1780 et 1680 cm^{-1} sur les spectres IR des gommés de caoutchouc naturel (Figure 21). Une première bande centrée à 1711 cm^{-1} correspond à l'élongation de la liaison carbonyle des groupements fonctionnels carboxyles. La seconde bande de vibration est située entre 1748 et 1738 cm^{-1} et correspond à l'élongation de la liaison carbonyle des groupements esters. Cette bande est centrée à 1748 cm^{-1} pour les échantillons présentant une absorbance maximale élevée, alors qu'elle est centrée à 1738 cm^{-1} pour les échantillons présentant une absorbance maximale relativement faible. Les différences observées au niveau de la fréquence de vibration de cette liaison carbonyle peuvent être expliquées par des différences d'environnement chimique. Les liaisons hydrogènes peuvent en effet affaiblir les liaisons carbonyles. La vibration de ces liaisons affaiblies requiert des énergies plus faibles et se produit à des fréquences plus faibles. La spectroscopie infrarouge permet ainsi de noter que la densité d'interactions physiques autour des groupements fonctionnels esters, est probablement plus importante pour les gommés présentant des bandes esters moins intenses (Figure 21A), et donc des concentrations plus faibles.

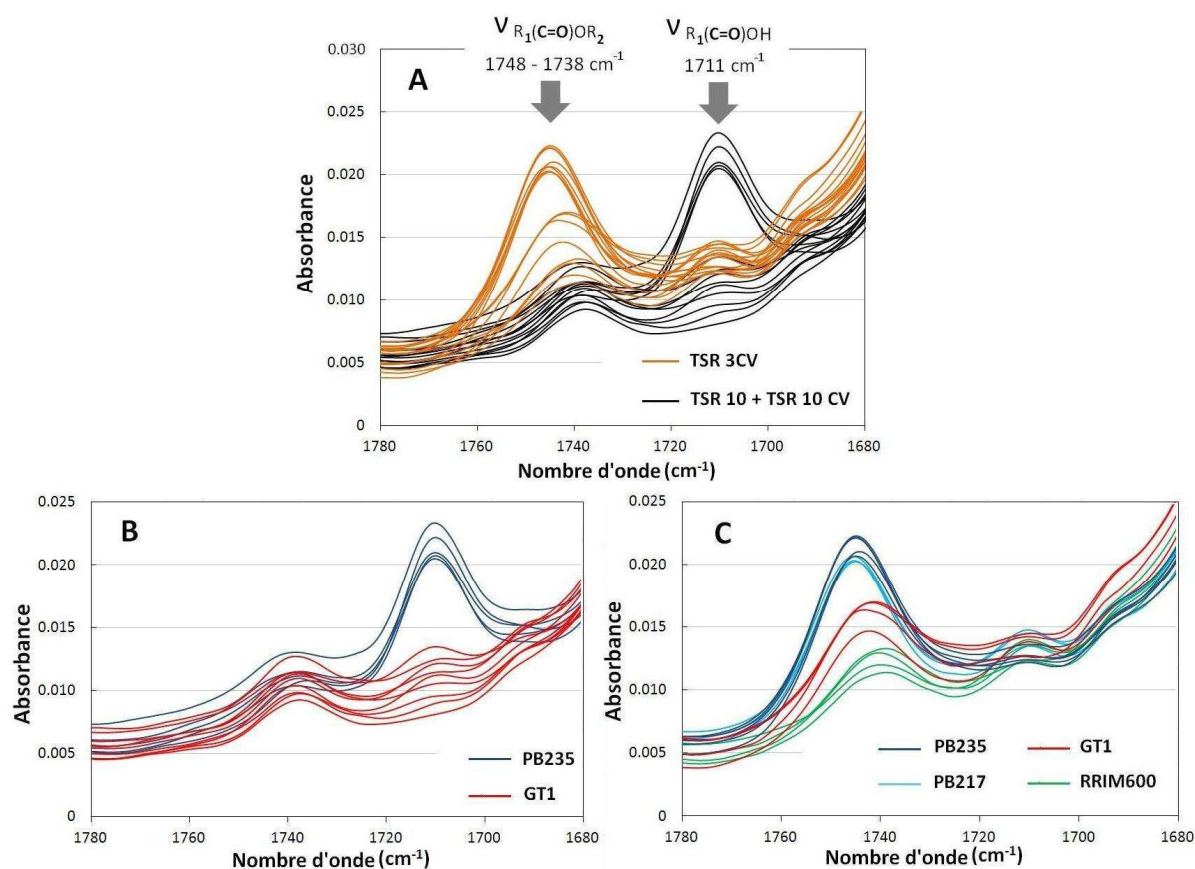


Figure 21. Spectres infrarouges des gommés de caoutchouc naturel selon : le grade (A), le clone pour les échantillons de grade TSR10 et TSR10CV (B) ou TSR3CV (C).

Ces deux bandes de vibration sont principalement liées à la présence de lipides dans les échantillons de caoutchouc naturel. Les variations importantes mesurées au niveau de l'absorbance maximale de chacune de ces deux bandes, indiquent des différences de concentrations importantes (Figure 21A). La composition lipidique du caoutchouc naturel est en effet très dépendante de l'échantillon analysé. Par exemple, la quantité totale d'acide gras a été estimée à 45% et 57% (m/m) de l'extrait lipidique total pour des gommes respectivement issues des clones RRIM600 et PB235 ^[26]. L'extrait lipidique peut également varier entre 1,5% et 3,0% de la masse du caoutchouc naturel ^[17].

L'étude de ces deux bandes peut fournir des informations importantes sur la nature (origine clonale, conditions de fabrication) de la gomme. En effet, une influence du grade a d'abord été mise en évidence (Figure 21A). Tous les échantillons de grades TSR10 et TSR10CV étudiés présentent une bande ester ($1748-1738\text{ cm}^{-1}$) relativement faible. Les bandes esters les plus intenses, traduisant des concentrations en ester élevées, ont été observées pour les grades TSR3CV uniquement. Au contraire, toutes les gommes TSR3CV présentent des bandes carboxyles (1711 cm^{-1}) faibles. Pour les échantillons de TSR10 et TSR10CV, les bandes carboxyles les plus intenses ont été enregistrées pour le clone PB235, alors qu'une bande faible est observée pour chacune des gommes issues de latex du clone GT1 (Figure 21B). Pour les échantillons de TSR3CV, les gommes fabriquées à partir des clones PB235 et PB217 présentent les bandes esters les plus intenses (Figure 21C). Les gommes issues des clones PB235 et PB217 ont donc des compositions lipidiques très différentes de celles issues de GT1 et RRIM600. En effet, il a été montré que les gommes fabriquées à partir de latex du clone PB235 ont des extraits lipidiques et des taux d'acides gras supérieurs aux gommes issues du clone RRIM600 ^[26].

Les temps de maturation plus courts mis en place durant la fabrication des gommes de grade TSR3CV, permettent la conservation des acides gras estérifiés, sous forme de triacylglycérols, initialement présents dans le latex. Ces esters sont hydrolysés en acides carboxyliques, i.e. en acides gras libres, au cours de la maturation des coagulums de tasse utilisés pour la fabrication des gommes TSR10 et TSR10CV ^[128]. Par conséquent, les clones PB235 présentent des bandes esters intenses pour les gommes TSR3CV et des bandes carboxyles intenses pour les gommes TSR10 et TSR10CV.

1.3.2. Estimation de l'extrait lipidique total

Tous les lipides présents dans le caoutchouc naturel ne possèdent pas de groupements fonctionnels esters ou carboxyles. Les stérols libres ou les tocotriénols, par exemple, ne présentent qu'une fonction alcool, et n'apparaissent donc pas dans la région comprise entre 1800 et 1500 cm^{-1} . Cependant, une estimation de l'extrait lipidique total peut être réalisée par l'étude des deux bandes esters et carboxyles. La figure 22 présente l'évolution de l'aire totale des deux bandes de vibration, en fonction de l'extrait lipidique des échantillons, quantifié selon le protocole développé par Liengprayoon *et al.* ^[24]. Les aires utilisées ont été

calculées en intégrant de vallée à vallée chacune des deux bandes d'intérêt. Une régression linéaire significative ($R^2 = 0,90$; valeur- $p < 0,0001$ selon le test de Fisher) a été obtenue. Cependant, la proportion de gommés présentant des valeurs intermédiaires d'extrait lipidique (entre 2,5 et 3,5% m/m) est insuffisante, pour véritablement conclure sur la validité du modèle. L'analyse d'échantillons supplémentaires est nécessaire pour permettre la quantification des lipides du caoutchouc naturel à partir de ce modèle linéaire. Néanmoins, une estimation de l'extrait lipidique total semble d'ores et déjà possible par spectroscopie FT-IR.

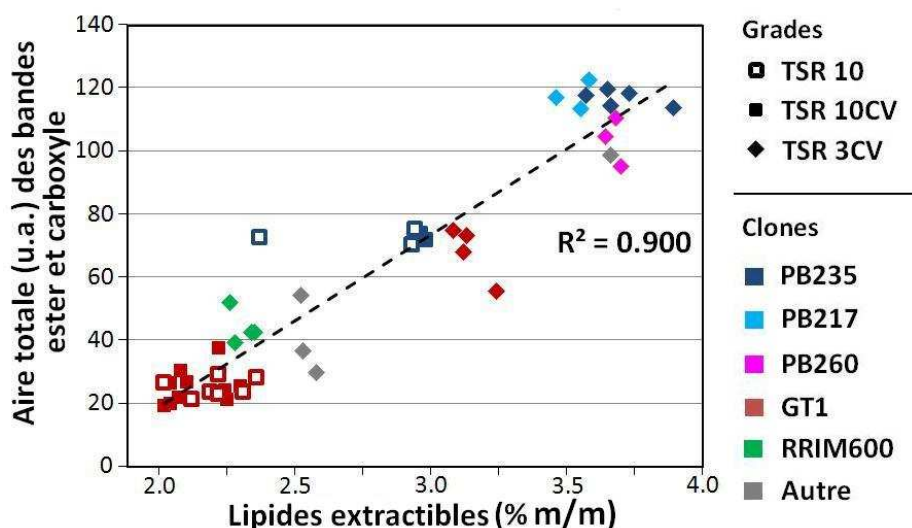


Figure 22. Evolution de l'aire des bandes de vibration des liaisons carbonyles des groupements fonctionnels esters et carboxyles ($1748-1738\text{ cm}^{-1}$ et 1711 cm^{-1}), avec l'extrait lipidique total des gommés étudiées.

1.3.3. Quantification des esters et des acides carboxyliques par spectroscopie FT-IR

1.3.3.1. Préparation de mélanges étalons pour le dosage des liaisons carbonyles

Afin de quantifier les groupements fonctionnels esters et carboxyles dans les gommés de caoutchouc naturel, plusieurs séries de mélanges étalons ont été préparées par incorporation d'ester (stéarate de méthyle) ou d'acide carboxylique (acide stéarique) en quantités différentes, dans plusieurs matrices polyisopréniques. Deux caoutchoucs naturels présentant des bandes esters (CA10CIP23, TSR10, GT1) et carboxyles (CA10CVCIP13, TSR10CV, GT1) faibles, ainsi qu'un poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse (Nipol IR2200) ont été sélectionnés pour la fabrication de ces mélanges. Pour chacun des mélanges à base de polyisoprènes naturels (Figure 23) et synthétique (Figure 24), les bandes de vibration des liaisons carbonyles ont été mesurées à 1745 et 1711 cm^{-1} pour les groupements fonctionnels esters et carboxyles respectivement, en accord avec l'attribution des bandes précédente (Tableau 7). Notons qu'aucune bande carboxyle n'est observable pour les mélanges à base

d'IR2200 et d'ester (Figure 24A), ce qui indique que les lipides introduits dans ces mélanges ne sont pas dégradés durant la phase de mastication.

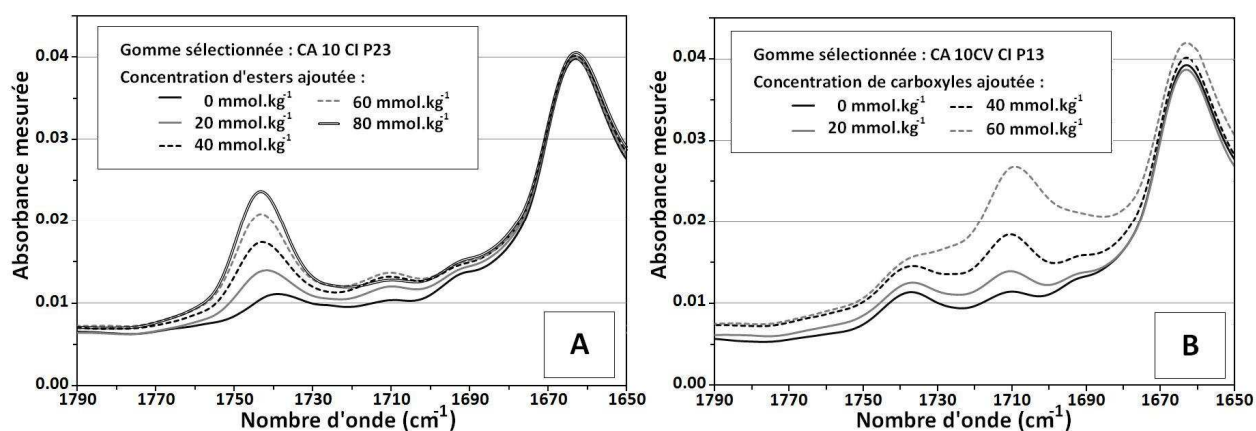


Figure 23. Spectres infrarouges des mélanges étalons préparés par ajout de stéarate de méthyle (A) et d'acide stéarique (B) dans des gomme de caoutchouc naturel présentant initialement des bandes esters (A) et carboxyles (B) faibles.

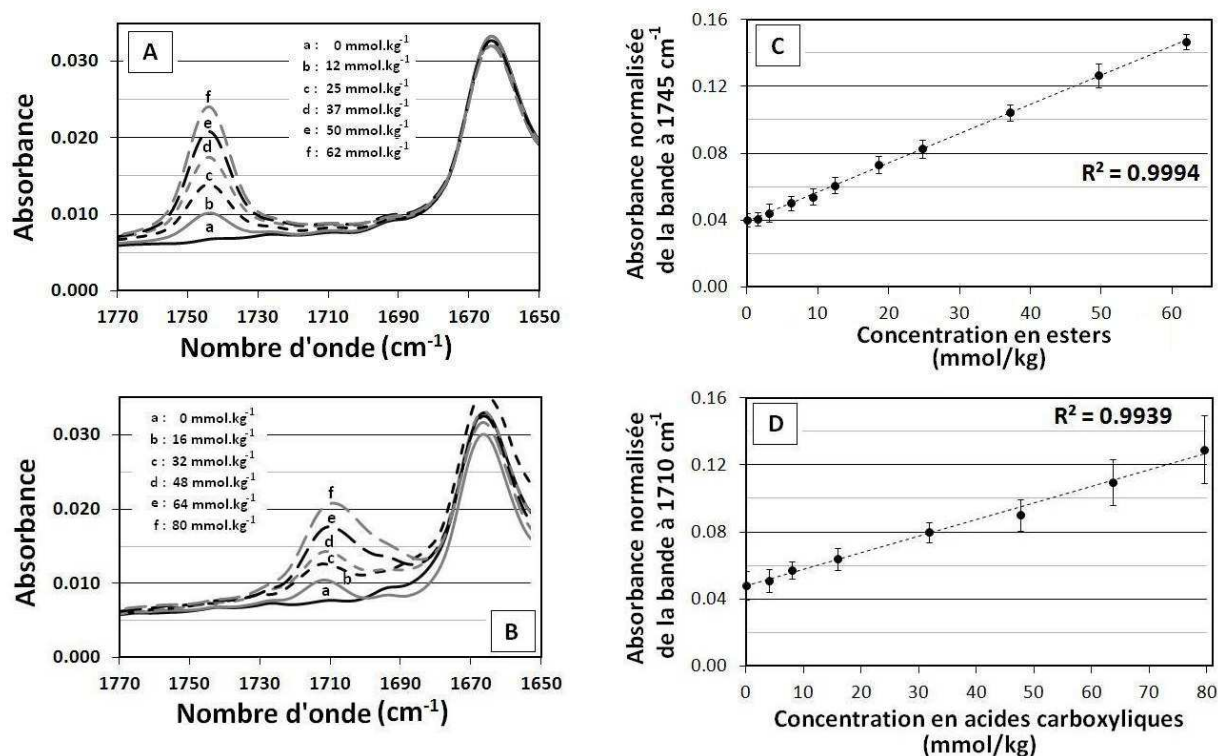


Figure 24. Spectres infrarouges des mélanges étalons préparés par ajout de stéarate de méthyle (A) et d'acide stéarique (B) dans un poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (IR2200). Evolution de l'absorbance maximale de la bande carbonyle, après normalisation des spectres avec l'absorbance maximale de la bande à 834 cm⁻¹ (monomère *cis*-1,4-isoprène), dans le cas d'un ajout de groupements fonctionnels esters (C) et carboxyles (D).

Une augmentation régulière de l'absorbance maximale des bandes carbonyles avec la concentration en lipides incorporés, a été observée quelque soit la matrice. Chacune des matrices étudiées peut ainsi être utilisée pour la préparation de mélanges étalons. Cependant, il semble préférable de privilégier l'IR2200, ne contenant pas d'esters et d'acides carboxyliques initialement, pour une quantification absolue de ces groupements fonctionnels dans le caoutchouc naturel. Ainsi, seuls les mélanges à base de poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse ont été utilisés pour la suite de l'étude.

1.3.3.2. Vérification des concentrations incorporées

La quantification des groupements fonctionnels esters et carboxyles dans les gommés de caoutchouc naturel, via l'utilisation de mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique, nécessite de connaître les concentrations de lipides introduits. Les pertes de matière pouvant intervenir durant la phase d'incorporation sur mélangeur à cylindres ont ainsi été prises en compte. Pour chacune des deux gammes préparées (ester ou acide carboxylique), des extractions lipidiques ont été réalisées sur trois mélanges contenant des concentrations en lipides élevées, intermédiaires et nulles. Les quantités de matière extraites, correspondant généralement à l'extrait lipidique de l'échantillon, sont reportées dans le tableau 8. Les mélanges avec les concentrations introduites en acide stéarique (#1) et en stéarate de méthyle (#3) les plus importantes présentent des extraits lipidiques plus élevés que les mélanges intermédiaires (#2 ; #4). Une bonne répétabilité des extractions (CV < 5%) est observée pour ces échantillons. Cependant, les extraits lipidiques de ces gommés ne suffisent pas à calculer les concentrations introduites. En effet, le polyisoprène témoin (#5) présente une quantité de matière extraite non nulle, traduisant la présence d'additifs extractibles dans la formulation du poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse, ou bien l'extraction simultanée de macromolécules de polyisoprène [25].

Tableau 8. Composition lipidique de quelques mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique.

| # | Matrice | Lipides incorporés | Concentration en lipide cible (C1) (mmol.kg ⁻¹) | Extrait lipidique (% m/m) | Proportion de lipides dans l'extrait (% m/m) | Concentration en lipides estimée (C2) (mmol.kg ⁻¹) | Ratio des concentrations : C1 / C2 |
|---|---------|---------------------|--|------------------------------|---|---|------------------------------------|
| 1 | IR2200 | Acide stéarique | 183,3 | 5,49 (5%) | 82,4 (4%) | 159,1 (14%) | 0,87 (9%) |
| 2 | IR2200 | Acide stéarique | 55,0 | 2,26 (4%) | 62,0 (5%) | 49,1 (1%) | 0,89 (2%) |
| 3 | IR2200 | Stéarate de méthyle | 191,6 | 5,96 (1%) | 62,1 (1%) | 123,9 (3%) | 0,65 (2%) |
| 4 | IR2200 | Stéarate de méthyle | 57,5 | 2,21 (1%) | 59,3 (3%) | 43,9 (2%) | 0,76 (5%) |
| 5 | IR2200 | - | 0 | 0,82 (15%) | 0 - | 0 - | - - |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

Les différents extraits ont ensuite été caractérisés par chromatographie sur couche mince (CCM ; Figure 25). Une phase éluante apolaire est utilisée pour la séparation des composés. Un étalonnage à l'acide stéarique (b ; R_f = 0,19) et au stéarate de méthyle (a ; R_f =

0,78) permet de calculer les quantités de lipides déposées pour chacun des extraits. Il ressort que les extraits obtenus à partir des mélanges #1 à #4 sont composés de 17% à 41% d'autres composés que les lipides introduits (Tableau 8). Une estimation de la concentration en acide stéarique ou en stéarate de méthyle de chacun des quatre mélanges est ainsi réalisée. Les ratios entre concentrations théoriques et estimées pour les mélanges #1 et #2 sont équivalents (0,87 et 0,89). Un ratio moyen de 0,88 permet ainsi d'estimer les concentrations de la gamme étalon préparée par incorporation d'acide stéarique, avec une incertitude relative de 2%. Les ratios calculés pour les mélanges #3 et #4 sont plus dispersés (0,65 – 0,76). Un ratio moyen de 0,71 est utilisé pour estimer les concentrations de la gamme étalon préparée à partir de stéarate de méthyle. L'incertitude relative sur cette seconde gamme est cependant plus élevée (12%). L'analyse CCM de l'extrait obtenu à partir du poly(*cis*-1,4-isoprène) témoin (#5) met en évidence la présence de composés très apolaires ($R_f = 1,0$). La trainée causée par l'élution de ces composés indique qu'il pourrait s'agir de macromolécules de polyisoprène. En effet, le poly(*cis*-1,4-isoprène) est un composé très apolaire, dont les masses molaires élevées tendent à freiner la migration en CCM. Notons ainsi que le protocole développé par Liengprayoon *et al.* ^[24] pour extraire les lipides du caoutchouc naturel, entraîne également une co-extraction du polyisoprène. Les travaux de thèse de Liengprayoon ^[25] ont cependant permis de limiter les quantités de macromolécules co-extraites.

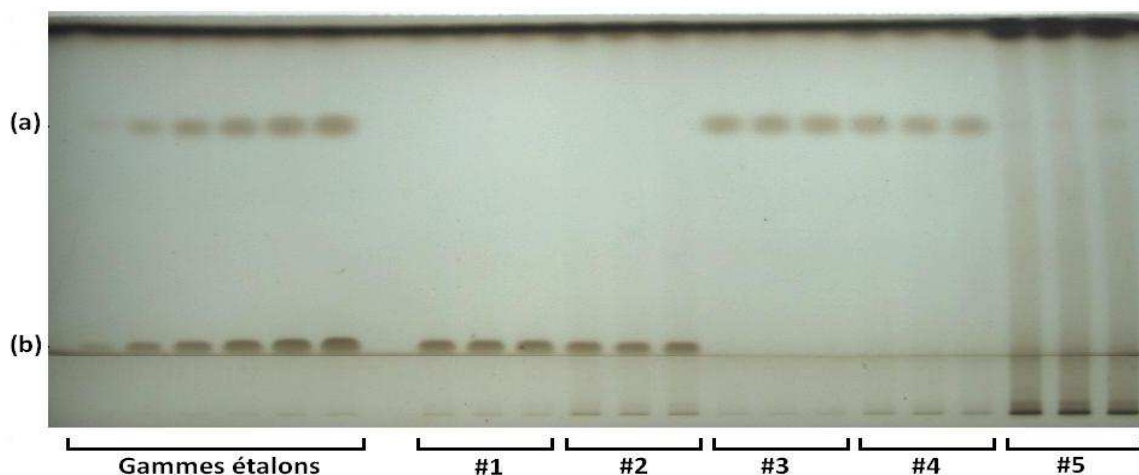


Figure 25. Analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits lipidiques de mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique. La nature des dépôts numérotés #1 à #5 est détaillée dans le tableau 8. Un étalonnage réalisé à partir de stéarate de méthyle (a) et d'acide stéarique (b), permet d'estimer les concentrations des mélanges préparés.

1.3.3.3. Définition des droites d'étalonnage

Les concentrations estimées des mélanges à base de polyisoprène synthétique déterminées précédemment permettent de définir des droites d'étalonnage pour la quantification des liaisons carbonyles dans le caoutchouc naturel. Plusieurs méthodes de traitement des spectres IR ont été comparées. Tout d'abord, l'absorbance maximale de la

bande carbonyle d'intérêt a été normalisée par l'absorbance maximale de la bande à 1664 cm^{-1} (ν C=C : Méthode A), comme décrit par Amnuaypornsrri *et al.* [90]. Les spectres IR ont également été normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 834 cm^{-1} (γ =C-H du monomère *cis*-1,4-isoprène). L'absorbance maximale (Méthode B) et l'aire (Méthode C) de la bande carbonyle d'intérêt, ont ensuite été récupérées sur le spectre normalisé. Pour chacune des trois méthodes de traitement des spectres, une augmentation linéaire du paramètre étudié est observée lorsque la concentration en liaisons carbonyles augmente dans l'IR2200. D'excellents coefficients de détermination (avec des valeurs- $p < 0,0001$ selon le test de Fisher) ont été obtenus (Tableau 9). Pour la bande ester, les trois méthodes de calcul génèrent des coefficients de détermination équivalents ($R^2 > 0,99$). En effet, la bande ester est suffisamment éloignée de la bande ν C=C (1664 cm^{-1}) pour permettre l'utilisation des méthodes A ($A_{\text{C=O}}/A_{1664}$) et C (Aire $_{\text{C=O}}$). Au contraire, les coefficients de détermination calculés pour la bande carboxyle à partir de ces deux méthodes sont plus faibles, de par la proximité de la bande à 1664 cm^{-1} . Pour chacune des deux bandes carbonyles, les meilleurs coefficients de détermination sont calculés avec la méthode B ($A_{\text{C=O}}/A_{834}$). Les droites d'étalonnage obtenues avec cette méthode sont présentées sur la figure 24.

Tableau 9. Détails des trois méthodes de traitement des spectres étudiées, et coefficients de détermination des droites d'étalonnage associées.

| Méthodes de traitement des spectres | | | Coefficients de détermination | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--|-------------------------------|-----------------|
| | Bande de référence | Paramètre étudié | Bande ester | Bande carboxyle |
| A | ν C=C (1664 cm^{-1}) | Absorbance maximale de la bande carbonyle ($A_{\text{C=O}}/A_{1664}$) | 0.998 | 0.963 |
| B | γ C-H (834 cm^{-1}) | Absorbance maximale de la bande carbonyle ($A_{\text{C=O}}/A_{834}$) | 0.999 | 0.994 |
| C | γ C-H (834 cm^{-1}) | Aire de la bande carbonyle (Aire $_{\text{C=O}}$) Intégration de vallée à vallée | 0.999 | 0.953 |

ν : Elongation ; γ : Déformation angulaire hors du plan

1.3.4. Comparaison avec des méthodes conventionnelles

Cinq gommés présentant des intensités de bandes esters et carboxyles très différentes, ont été sélectionnées pour cette étude (Figure 26). Les groupements fonctionnels esters et carboxyles de chacun des cinq échantillons ont été quantifiés par spectroscopie FT-IR (Tableau 10). Les droites d'étalonnage obtenues à partir des mélanges à base de polyisoprène synthétique, et les trois méthodes de traitement des spectres IR détaillées précédemment (Tableau 9) ont été utilisées pour cette quantification. Les concentrations en liaisons carbonyles calculées (3 à 60 mmol.kg^{-1} de caoutchouc naturel ; Tableau 10) dépendent fortement de la méthode utilisée. Concernant les groupements esters, la méthode A ($A_{\text{C=O}}/A_{1663}$) entraîne des concentrations plus faibles que les méthodes B ($A_{\text{C=O}}/A_{840}$) et C (Aire $_{\text{C=O}}$). Les différences observées entre les méthodes A et B varient entre

17 et 47%, ce qui démontre clairement l'importance de la bande de référence, utilisée pour la normalisation des spectres IR. Pour les gommés présentant des bandes esters intenses, les concentrations obtenues à partir de la méthode C sont légèrement supérieures à celles calculées par la méthode B. Concernant la quantification des groupements carboxyles, des concentrations plus faibles ont été calculées avec la méthode A, par rapport à la méthode B ; à l'exception de l'échantillon #3 pour lequel la même concentration a été calculée par les deux méthodes. L'utilisation de la méthode C entraîne également des concentrations en groupements carboxyles plus faibles, par rapport à la méthode B. La dispersion des concentrations mesurées sont plus faibles en utilisant la méthode C. Les coefficients de variation sont équivalents entre les méthodes A et B, pour chacune des deux bandes de vibration. Dans l'ensemble, la dispersion est plus importante pour les faibles concentrations. La quantification de ces groupements fonctionnels par spectroscopie FT-IR semble ainsi plus adaptée aux échantillons présentant des concentrations élevées.

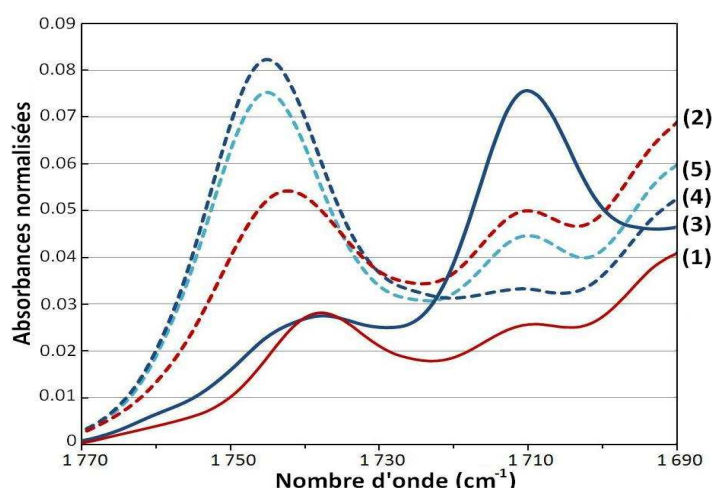


Figure 26. Spectres infrarouges des cinq gommés sélectionnés pour une caractérisation par CCM de leur extrait lipidique : (1) CA10CVCIP13 (TSR10CV, GT1) ; (2) CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) ; (3) CA10CIP08 (TSR10, PB235) ; (4) CA3CVVNP02 (TSR3CV, PB235) ; (5) CA3CVINP03 (TSR3CV, PB217).

Chacune des cinq gommés sélectionnées a également fait l'objet d'extractions lipidiques. Les extraits lipidiques obtenus ont été caractérisés par chromatographie sur couche mince (Figure 27), avec une phase éluante adaptée à l'étude des lipides neutres. La nature et la concentration de certaines des substances mises en évidence ont été déterminées par l'utilisation de lipides étalons. Des stérols libres ($R_f = 0,14$) sont présents en quantités équivalentes dans chacun des extraits étudiés. Plusieurs acides gras libres ont été mis en évidence : deux bandes présentant des R_f proches de l'acide oléique ($R_f = 0,18$) ont été attribuées à des acides gras furaniques ($R_f = 0,16$) et à d'autres acides carboxyliques ($R_f = 0,18$)^[26]. Rappelons que les groupements fonctionnels carboxyles du caoutchouc naturel sont principalement présents sur les acides gras libres. De très faibles concentrations en γ -tocotriénol ($R_f = 0,25$) ont été mesurées. La bande intense présentant un R_f de 0,35 a été attribuée à des triacylglycérols composés de trois acides gras furaniques. De la même façon,

les substances avec des R_f légèrement supérieurs à 0,35 sont probablement des triacylglycérols composés de moins de trois acides gras furaniques. Les groupements fonctionnels esters du caoutchouc naturel sont présents sur de nombreuses molécules telles que les triacylglycérols, les cires, ou les stérols estérifiés ^[26]. Ainsi, chaque substance présentant un R_f compris entre 0,35 et 1,00 est constituée d'au moins un groupement ester.

Quelques différences ont été observées au niveau de la composition en lipides neutres des cinq gommes étudiées. Une influence du grade a d'abord été soulignée. En effet, des substances avec des R_f inférieures à celui du β -sitostérol ($R_f = 0,14$) sont présentes uniquement pour les extraits des gommes TSR3CV. Les gommes TSR3CV présentent également des taux de triacylglycérols d'acides gras furaniques ($R_f = 0,35$) plus importants, et des taux de γ -tocotriénol ($R_f = 0,25$) plus faibles, que les échantillons TSR10 et TSR10CV. Une influence clonale a également été observée. La gomme TSR10CV issue de latex du clone GT1 présente ainsi des quantités d'acides gras libres ($R_f = 0,16 - 0,18$) plus faibles que la gomme TSR10 fabriquée à partir du clone PB235. Pour les gommes TSR3CV, les bandes correspondant aux triacylglycérols furaniques sont plus intenses pour les clones PB235 et PB217. Cela confirme que ces clones présentent des concentrations en esters plus importantes que les clones GT1, dans les gommes TSR3CV. Ces esters sont hydrolysés durant la fabrication des gommes TSR10, ce qui conduit à des concentrations en acides carboxyliques plus importantes pour les échantillons TSR10 et TSR10CV issus des clones PB235. Les mêmes observations ont été réalisées à partir de l'étude des spectres FT-IR (Figure 21).

Tableau 10. Concentrations en groupements fonctionnels esters et carboxyles calculées par spectroscopie FT-IR, et par chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait lipidique, pour une sélection de cinq gommes. Les concentrations en carboxyles calculées par CCM sont proposées en équivalents d'acide oléique (C18:1).

| # | Grade | Clone | Concentrations en groupements esters (mmol.kg ⁻¹) | | | Concentrations en groupements carboxyles (mmol.kg ⁻¹) | | | | |
|---|---------|-------|---|---|-------------------------------------|---|---|-------------------------------------|-------------|-------|
| | | | Spectroscopie FT-IR | | | Spectroscopie FT-IR | | | CCM | |
| | | | Méthode A (A _{C=O} / A ₁₆₆₃) | Méthode B (A _{C=O} / A ₈₄₀) | Méthode C (Aire _{C=O}) | Méthode A (A _{C=O} / A ₁₆₆₃) | Méthode B (A _{C=O} / A ₈₄₀) | Méthode C (Aire _{C=O}) | (eq. C18:1) | |
| 1 | TSR10CV | GT1 | 10,6 (16%) | 14,4 (16%) | 11,6 (4%) | 11,6 (23%) | 13,8 (27%) | 12,6 (7%) | 15,9 | (4%) |
| 2 | TSR3CV | GT1 | 9,9 (13%) | 18,5 (5%) | 26,5 (5%) | 10,3 (19%) | 20,7 (8%) | 16,6 (1%) | 29,2 | (5%) |
| 3 | TSR10 | PB235 | 8,2 (14%) | 9,9 (19%) | 9,4 (7%) | 60,5 (2%) | 58,3 (6%) | 49,8 (2%) | > 40 | - |
| 4 | TSR3CV | PB235 | 33,6 (4%) | 43,9 (2%) | 49,2 (2%) | 11,0 (12%) | 19,3 (12%) | 3,1 (15%) | 13,9 | (6%) |
| 5 | TSR3CV | PB217 | 27,0 (6%) | 39,5 (6%) | 43,5 (3%) | 16,8 (11%) | 29,8 (15%) | 19,3 (4%) | 28,4 | (11%) |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

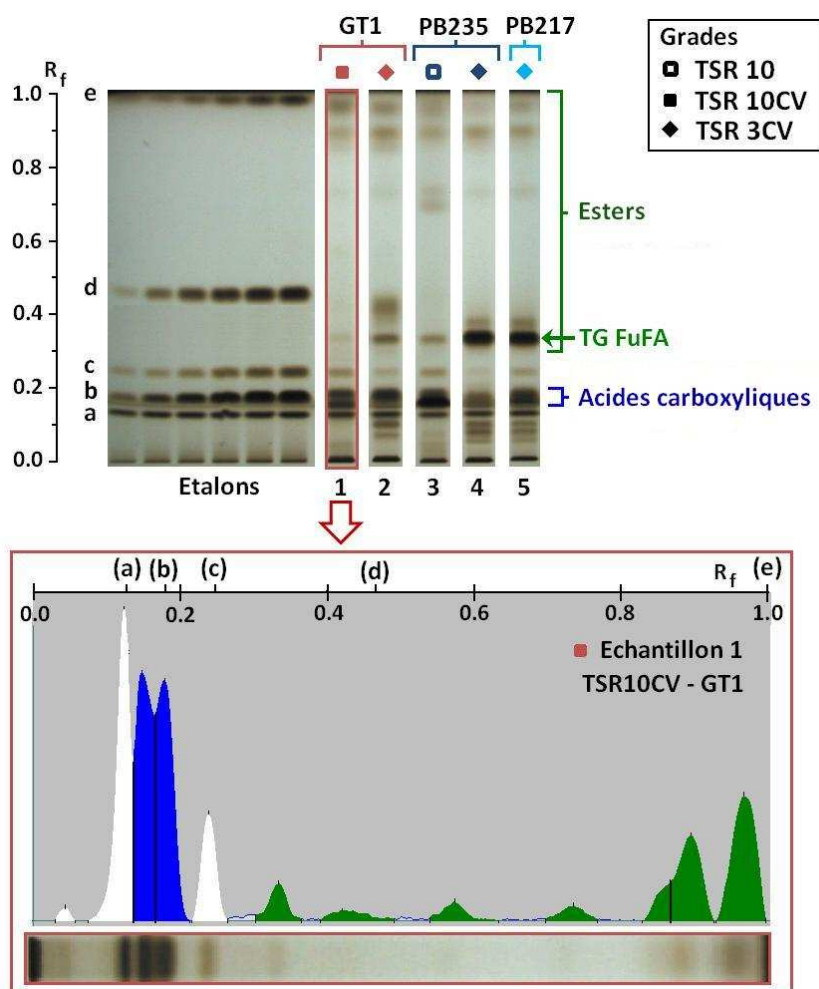


Figure 27. Analyses CCM des cinq gommes sélectionnées. Plusieurs étalons ont été utilisés : β -sitostérol (a), acide oléique (b), γ -tocotriénol (c), trioléine (d), stéarate de cholestérol (e). Les acides carboxyliques sont représentés en bleu, et les esters en vert.

Pour chacune des cinq gommes étudiées, la quantité d'acides gras libres, contenant un groupement carboxyle par molécule, a été estimée en équivalents d'acide oléique (C18:1), à partir de ces analyses CCM. Les résultats sont comparés aux concentrations calculées par spectroscopie FT-IR (Tableau 10). La quantification des fonctions carboxyles par CCM donne des concentrations plus importantes que les méthodes A (A_{1711}/A_{1663}) et C (A_{1711}) en spectroscopie FT-IR. Ces résultats supportent l'idée que la bande d'élongation de la liaison C=C (1663 cm^{-1}) ne doit pas être utilisée pour la normalisation des spectres IR (Méthode A), car cela entraîne une sous-estimation des concentrations en acides gras libres. La normalisation des spectres avec la bande spécifique du monomère *cis*-1,4-isoprène (840 cm^{-1} , méthode B) fournit des concentrations en acides carboxyliques plus en accord avec les analyses CCM. L'intégration de la bande carboxyle (Méthode C) doit également être évitée de par la proximité de la bande à 1663 cm^{-1} . Ce travail de quantification par CCM n'a pas été réalisé sur les esters extraits, du fait de leur grande diversité. Cependant, la comparaison entre les concentrations en acides carboxyliques déterminées par les deux techniques semble indiquer que la spectroscopie FT-IR peut être utilisée pour la quantification des

liaisons carbonyles, via l'utilisation de mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique. Les esters et acides gras libres peuvent ainsi être quantifiés en utilisant les absorbances maximales des bandes à 1748-1738 cm^{-1} et 1711 cm^{-1} respectivement, après normalisation des spectres IR par l'absorbance maximale de la bande de déformation angulaire hors du plan de la liaison $=\text{C-H}$ du monomère *cis*-1,4-isoprène (840 cm^{-1} ; méthode B).

Rappelons qu'une droite d'étalonnage similaire, préparée à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique contenant différentes quantités de stéarate de méthyle, a déjà été utilisée pour la quantification des esters du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR ^[90, 105]. Amnuaypornsrri *et al.* ont utilisé la méthode A ($A_{\text{C=O}}/A_{1663}$) pour calculer des concentrations en esters. Cependant, notre étude indique que cette méthode entraîne une sous-estimation des concentrations. Les concentrations calculées avec la méthode A sont en effet 17% à 47% plus faibles que celles obtenues avec la méthode B. L'absorbance maximale mesurée à 1663 cm^{-1} dépend en fait de la bande amide I très proche, et donc de la quantité de protéines dans l'échantillon. Les échantillons qui présentent des bandes amides I très intenses, ont des absorbances maximales à 1663 cm^{-1} plus élevées (Figure 30). Par conséquent, la surestimation de la bande à 1663 cm^{-1} entraîne une sous-estimation de la concentration en esters.

1.3.5. Suivi des extractions lipidiques par spectroscopie FT-IR

Les spectres infrarouges des gommages brutes et délipidées ont été comparés afin d'évaluer les quantités d'acides gras libres et d'esters extractibles (Figure 28). La disparition de la bande de vibration correspondant aux groupements carboxyles indique que la totalité des acides gras libres du caoutchouc naturel passent en solution durant l'extraction lipidique. La présence d'esters non-extractibles dans les échantillons délipidés est également mise en évidence. La droite d'étalonnage développée à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (Figure 24) permet d'estimer les proportions de groupements fonctionnels esters non-extractibles, qui varient entre 17% (TSR3CV ; Figure 28B) et 32% (TSR10 ; Figure 28A) des esters initialement présents dans le matériau. Certains de ces esters non-extractibles pourraient être liés aux chaînes de polyisoprène ^[13], ou bien être présents sur d'autres composés que les lipides du caoutchouc naturel. L'extraction de ces esters après transestérification au méthanolate de sodium ^[70], pourrait être une piste à suivre pour identifier la nature de ces composés.

Il est intéressant de noter que les gommages dont les concentrations initiales en esters sont les plus faibles, présentent une proportion d'esters non-extractibles plus importante (TSR10 et TSR10CV ; Figure 28A). Rappelons que ces gommages présentent également une densité d'interactions physiques, évaluée à partir de la position exacte de la bande ester, plus importante (Figure 21A). La mauvaise extractibilité de ces groupements fonctionnels esters pourrait donc être causée par ces interactions physiques.

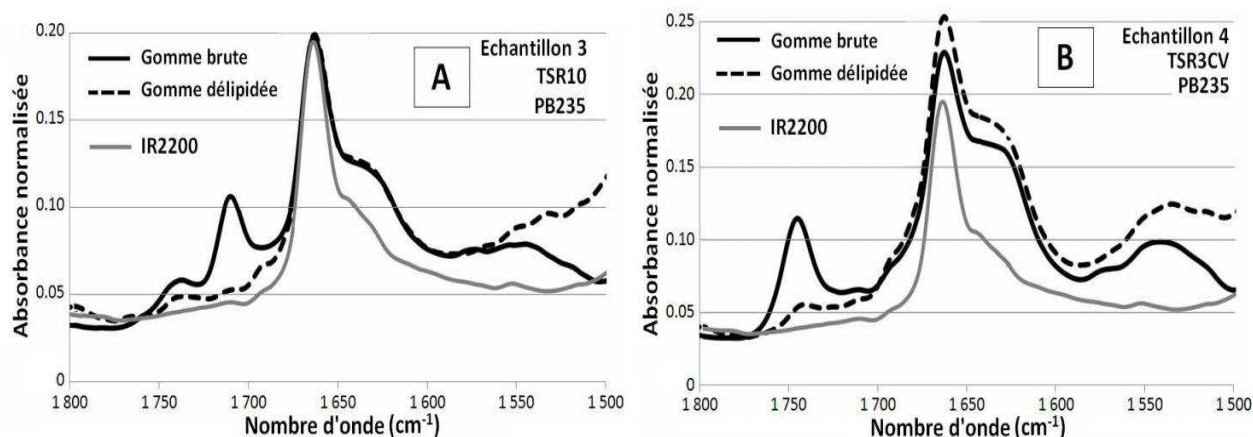


Figure 28. Evolution des bandes de vibration des liaisons carbonyles durant l'extraction lipidique pour des gomme contenant des quantités initiales importantes de groupements fonctionnels carboxyles (A : CA10CIP08, TSR10, PB235) et esters (B : CA3CVVNP02, TSR3CV, PB235).

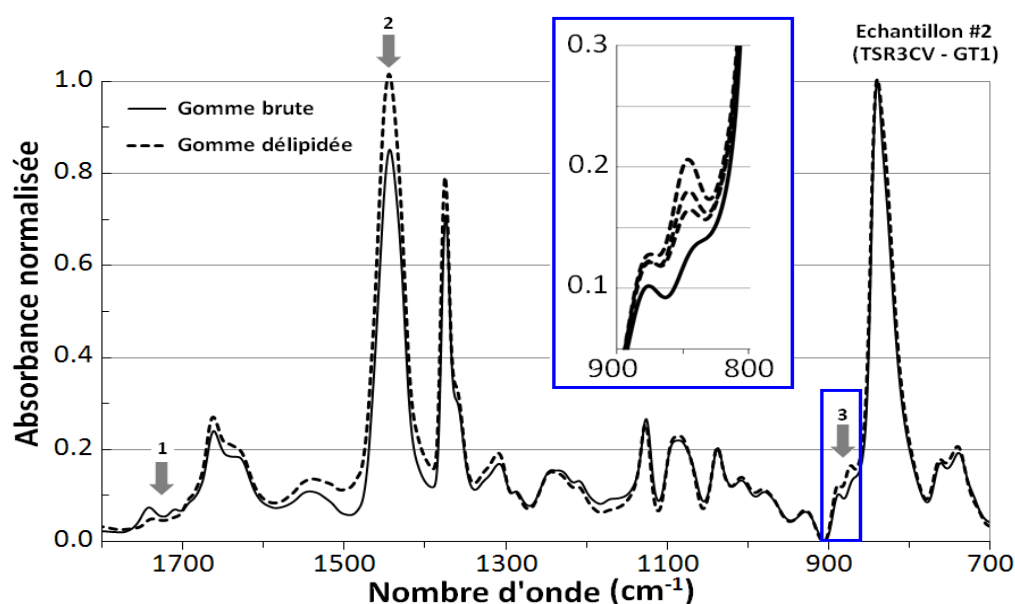


Figure 29. Spectres infrarouges de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) brute et délipidée. Les différences numérotées indiquent : une disparition des deux bandes lipides (1) ; une évolution de la structure de la macromolécule (2 et 3) durant l'extraction lipidique.

Deux autres différences, pouvant traduire une évolution de la structure du poly(*cis*-1,4-isoprène) durant l'extraction lipidique, ont été mises en évidence à partir des spectres FT-IR des échantillons délipidés (Figure 29). Tout d'abord, une augmentation de 20% de l'absorbance maximale normalisée de la bande de vibration des groupements méthylènes (δ -CH₂- ; 1447 cm⁻¹) est observée après extraction lipidique. Une augmentation de la bande de vibration présente à 872 cm⁻¹, pouvant être attribuée à des groupements éthers (C-O-C) [122, 125] ou à des peroxydes (C-O-O-C) [126], est également observée sur les spectres des échantillons délipidés. Cette bande est difficilement observable sur les spectres des gomme brutes (Figure 29). Les trois répétitions réalisées pour chacune des extractions lipidiques ne

présentent pas les mêmes augmentations, traduisant une faible répétabilité du phénomène observé. Une oxydation de la double liaison C=C de la chaîne macromoléculaire durant l'extraction lipidique, pourrait être responsable de l'augmentation de ces deux bandes de vibration. Notons que l'oxydation du polymère entrainerait également une diminution de la bande à 840 cm^{-1} ($\gamma = \text{C-H}$ du monomère *cis*-1,4-isoprène). L'utilisation de cette bande pour la normalisation des spectres pourrait donc ne pas être adaptée à l'étude des gommages délipidées, et entrainer des erreurs concernant les concentrations en groupements esters non-extractibles calculées (de 17% à 32% ; Figure 28).

1.4. Caractérisation des protéines du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR

1.4.1. *Description des bandes et quantification directe du taux de protéines*

Les bandes de vibration notées « Amide I » et « Amide II », respectivement centrées à 1630 cm^{-1} et 1541 cm^{-1} (Figure 30), sont attribuables aux liaisons peptidiques, i.e. aux protéines et polypeptides du caoutchouc naturel. Pour ces deux bandes, les absorbances maximales mesurées sont très variables et traduisent des concentrations en liaisons peptidiques très différentes entre les gommages analysées. Comme précédemment, plusieurs méthodes de traitement des spectres IR ont été étudiées. Dans un premier temps, les absorbances maximales des deux bandes ont été récupérées sur les spectres avant normalisation. Les spectres IR ont ensuite été normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm^{-1} ($\gamma = \text{C-H}$ du monomère *cis*-1,4-isoprène). Les absorbances maximales et les aires des deux bandes amides ont été déterminées sur les spectres normalisés (Méthodes B et C précédentes). Pour les deux bandes amides, des régressions linéaires significatives (avec des valeurs- $p < 0,0001$ selon le test de Fisher) ont été obtenues entre les données obtenues par spectroscopie FT-IR et les taux d'azote des échantillons, mesurés par la méthode Dumas (Tableau 11). La corrélation la plus significative ($R^2 = 0,916$) a été obtenue en utilisant l'absorbance maximale de la bande amide I (1630 cm^{-1}), après normalisation des spectres IR par la bande à 840 cm^{-1} (Figure 31). Malgré le recouvrement important de cette bande amide avec la bande à 1663 cm^{-1} , la bande amide I semble être la plus adaptée pour une quantification des protéines et polypeptides du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR. La bande amide II, formée par le recouvrement d'au moins deux bandes de vibration différentes ($\beta\text{ N-H}$ et $\nu\text{ C-N}$), est en effet plus large et moins bien définie que la bande amide I. La méthode d'intégration de vallée à vallée des bandes amides est imprécise pour les gommages présentant de faibles concentrations en protéines, et conduit également à des corrélations moins significatives.

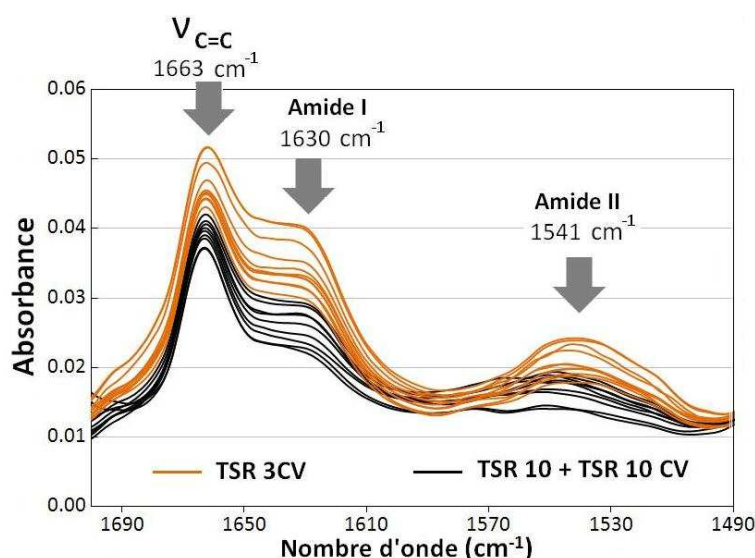


Figure 30. Spectres infrarouges (1700-1490 cm^{-1}) de gommages de caoutchouc naturel de grades différents.

Tableau 11. Coefficients de détermination calculés entre les analyses FT-IR et les taux d'azote mesurés, pour chacune des méthodes de traitement des spectres infrarouges.

| Méthode de traitement des spectres | Bande d'intérêt | Coefficient de détermination R^2 |
|--|-----------------|------------------------------------|
| Absorbance maximale de la bande amide | Amide I | 0,882 |
| | Amide II | 0,787 |
| Absorbance maximale de la bande amide après normalisation du spectre | Amide I | 0,916 |
| | Amide II | 0,838 |
| Aire de la bande amide après normalisation du spectre | Amide I | 0,889 |
| | Amide II | 0,887 |

Une influence des conditions de fabrication des gommages sur leur taux d'azote final a été soulignée (Figure 31). Les échantillons de grade TSR10 et TSR10CV présentent des taux d'azote plus faibles que les gommages de grade TSR3CV. En effet, la fabrication des grades TSR10 et TSR10CV comprend des temps de maturation plus longs, ce qui entraîne une dégradation plus importante des protéines initialement présentes dans le latex d'*Hevea brasiliensis*. Les grades TSR10 et TSR10CV contiennent ainsi des polypeptides, plus courts que les protéines initiales, qui sont plus facilement extraits lors des phases de lavage intervenant dans le processus de fabrication des gommages. Les quantités d'azote dans ces échantillons sont donc généralement plus faibles que pour les grades TSR3CV. L'étude par spectroscopie FT-IR permet de réaliser les mêmes observations. En effet, les gommages TSR3CV présentent des bandes amides plus intenses que les gommages TSR10 et TSR10CV (Figure 30). Une influence clonale a également été observée au sein d'un même grade : les échantillons fabriqués à partir de latex du clone GT1 présentent en effet des taux d'azote plus importants que ceux issus du clone PB235 (Figure 31). Cependant, la distribution continue des taux d'azote (de 0,20 à 0,55 % m/m) des gommages étudiées, semble traduire une influence clonale moins marquée que pour les taux de lipides (Figure 22).

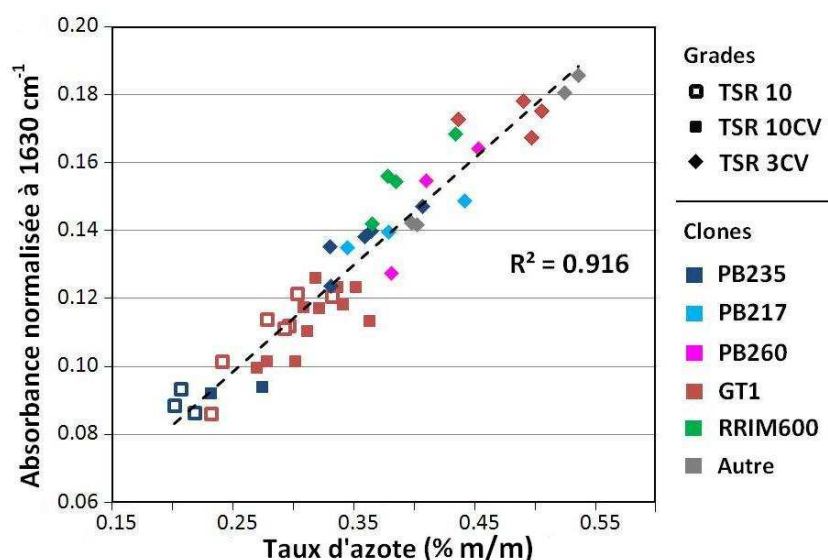


Figure 31. Evolution de l'absorbance maximale normalisée de la bande Amide I (1630 cm^{-1}) avec le taux d'azote des gommés, mesuré par la méthode Dumas. Une corrélation très significative ($R^2 = 0,916$; valeur- $p < 0,0001$ selon le test de Fisher) est mise en évidence.

1.4.2. Réalisation de mélanges étalons pour la quantification des protéines

Des mélanges étalons à base de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique (Nipol IR2200) contenant différentes quantités de protéines ont été préparés dans le but d'établir une droite d'étalonnage pour la quantification des protéines du caoutchouc naturel. L'albumine de sérum bovin (BSA), protéine largement utilisée en biochimie, a été sélectionnée pour ces essais. Une gamme de concentrations très large (0 – 10% m/m dans le matériau) a été préparée. Toutefois, la grande majorité des spectres IR enregistrés pour les mélanges étalons n'a pas présenté de bande amide, quelque soit les quantités de BSA introduites. Une légère augmentation de l'absorbance mesurée à 1630 cm^{-1} a cependant été observée (Tableau 12). Cependant, les absorbances mesurées pour ces mélanges sont très inférieures à celles des gommés de caoutchouc naturel présentant des taux d'azote équivalents. Notons également que des bandes amides très intenses ont été observées de manière aléatoire pour les mélanges les plus chargés, traduisant de très fortes concentrations en protéines localement. Ainsi, l'incorporation de BSA dans le polyisoprène synthétique semble conduire à la formation d'amas protéiques dispersés de manière inhomogène dans le matériau. Il n'a donc pas été possible de préparer de mélange polymère-protéine homogène dans nos conditions expérimentales. Il est probable que l'utilisation de polypeptides, plus courts que la protéine BSA utilisée, puisse permettre d'améliorer l'homogénéité des mélanges préparés.

Actuellement, des mélanges étalons préparés à partir de poly(*cis*-1,4-isoprène) synthétique contenant des quantités variables de protéines ne peuvent donc pas être utilisés pour une quantification des liaisons peptidiques du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR. Les quantités de protéines ou polypeptides dans les gommés de caoutchouc naturel peuvent cependant être déterminées par l'utilisation de caoutchoucs

naturels de référence, pour lesquels les concentrations en azote ont été mesurées chimiquement (Figure 31).

Tableau 12. Evolution de l'absorbance mesurée à 1630 cm^{-1} avec la teneur en azote, pour des gommages de caoutchouc naturel, et pour des mélanges étalons préparés à partir de polyisoprène synthétique.

| Echantillon | Taux d'azote (% m/m) | Absorbance à 1630 cm^{-1} après normalisation des spectres |
|-----------------------------|-------------------------|--|
| Caoutchoucs naturels avec : | | |
| - un taux d'azote élevé | 0,535 | 0,186 |
| - un taux d'azote faible | 0,202 | 0,086 |
| Mélanges d'IR2200 avec : | | |
| - 0% m/m de BSA | * 0,00 | 0,047 |
| - 2% m/m de BSA | * 0,32 | 0,043 |
| - 5% m/m de BSA | * 0,80 | 0,077 |
| - 10% m/m de BSA | * 1,60 | 0,122 |

Par convention, les taux d'azote notés * ont été calculés sur la base de 16% m/m d'azote par protéine.

1.5. Conclusions

Ainsi, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) en réflexion totale atténuée (ATR) est un outil adapté à l'étude d'échantillons de caoutchouc naturel sous forme solide. La méthode développée durant ces travaux de thèse permet de quantifier certains composés non-isoprènes, supposés jouer un rôle dans la structure associative de ce matériau ^[13], directement à partir d'une plaque laminée préparée sur un mélangeur à cylindres. Le taux de protéines d'une gomme peut être déterminé à travers l'étude de la bande de vibration amide I (1630 cm^{-1} ; Figure 31). L'élaboration de gammes d'étalonnage, par incorporation de stéarate de méthyle ou d'acide stéarique dans un poly(*cis*-1,4-isoprène) de synthèse (Figure 24), permet de quantifier les groupements fonctionnels esters ($1748 - 1738\text{ cm}^{-1}$) et carboxyles (1711 cm^{-1}), principalement présents sur certains lipides du caoutchouc naturel. Une estimation du taux de lipides extractibles semble également possible d'après ces premiers essais (Figure 22), mais le modèle présenté nécessite d'être validé par l'analyse d'échantillons supplémentaires. L'origine clonale et le procédé de fabrication des différentes gommages sont également étudiables par spectroscopie FT-IR.

Cette nouvelle méthode pourrait, à terme, être introduite dans les laboratoires de contrôle qualité des usines de production et de transformation du caoutchouc naturel, pour une estimation rapide des taux de composés non-isoprènes dans les gommages brutes. En vue d'une proposition de cette méthode à la Normalisation, des essais inter-laboratoires ont notamment été réalisés chez les différents partenaires du projet CANAOPT, durant le premier semestre de l'année 2015.

Cet outil trouve aussi son utilité dans ce travail de thèse, notamment pour étudier rapidement la composition des macrogels extraits par centrifugation, dont les faibles quantités disponibles ont entraîné des limitations quant aux essais de caractérisation mis en place.

2. Caractérisation de la mésostructure du caoutchouc naturel

L'analyse de la fraction soluble du caoutchouc naturel, par chromatographie d'exclusion stérique couplée à un détecteur de diffusion de la lumière multi-angulaire (SEC-MALS), permet de caractériser la structure des pelotes statistiques en solution [65, 74, 76, 77]. Sans conditionnement préalable des colonnes, une élution anormale des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) présents dans la fraction soluble filtrée, est observée [74]. Ces microagrégats co-éluent avec les pelotes statistiques de faibles masses molaires (Figure 32) et des masses molaires anormalement élevées sont observées aux temps d'élution correspondants. Par conséquent, la caractérisation des macromolécules en solution peut ainsi être biaisée par la co-élution de microagrégats généralement plus lourds que les pelotes statistiques. La présence de ces microagrégats influe sur les masses molaires moyennes et sur les rayons de giration calculés. Notons également que la quantité de microgel est dépendante de la gomme étudiée. Ainsi, l'estimation des masses molaires moyennes d'une gomme présentant un taux de Microgel_{<1 μ} élevé, sera probablement plus impactée qu'une gomme avec un taux relativement faible.

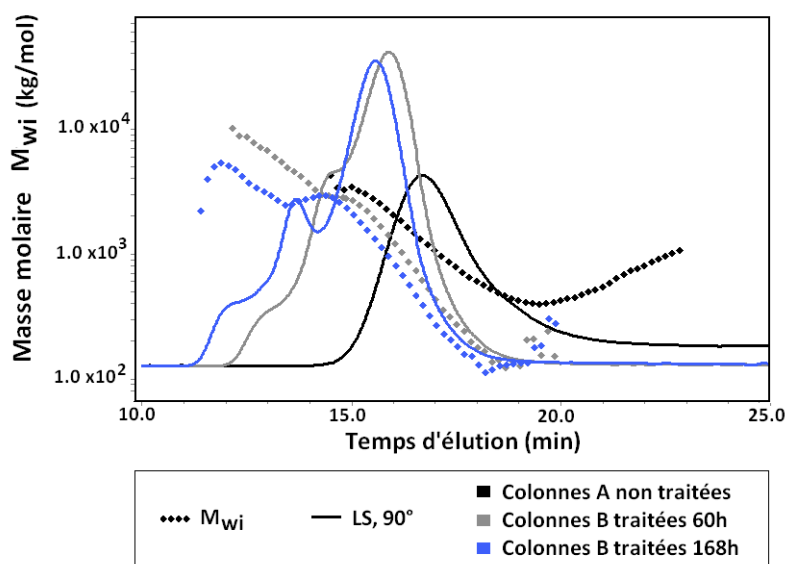


Figure 32. Profil d'élution en diffusion de la lumière (LS) à 90° et des masses molaires, pour une solution de caoutchouc naturel (CA10CIP11, TSR10, GT1) à 0,1% m/v dans du THF stabilisé et filtrée à 1 μm , injectée sur les colonnes A non traitées, et sur les colonnes B traitées au TBABr respectivement 60 h et 168 h.

Le conditionnement des colonnes de SEC avec une solution de bromure de tétrabutylammonium (TBABr) à 0,3% m/v dans du THF stabilisé permet d'éviter ce phénomène d'élution anormale ^[74]. Ainsi, les microagrégats présents en solution, ne sont plus retenus et éluent à des temps d'élution plus courts. Une séparation des microagrégats et des pelotes statistiques est alors possible (Figure 32).

Rappelons que le Fractionnement par couplage Flux-Force à Flux Asymétrique (A4F) couplé à un détecteur MALS, permet également d'apprécier la structure des microagrégats présents dans la fraction soluble filtrée à 1 μm du caoutchouc naturel ^[77]. Cette technique, qui avait dans un premier temps été envisagée comme alternative à la SEC-MALS pour caractériser le Microgel_{<1 μ} , n'a finalement pas pu être employée en raison d'une panne prolongée de l'appareillage. Retenons toutefois que Dubascoux *et al.* ^[77] ont montré que l'A4F-MALS fournissait des résultats beaucoup plus dispersés que la SEC-MALS, qui a finalement été sélectionnée pour caractériser la mésostructure des gommés de caoutchouc naturel.

2.1. Conditionnement des colonnes de SEC

Les travaux de Kim *et al.* ^[74] concernant le traitement des colonnes de SEC avec une solution de TBABr, ont été approfondis dans ces travaux de thèse, afin de caractériser in fine la mésostructure des gommés issues du projet CANAOPT. Les auteurs ont proposé un conditionnement des colonnes de 24 h, avant l'analyse des gommés par SEC-MALS. La figure 32 montre l'évolution de la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques avec la durée de traitement des colonnes, pour une gomme TSR10 fabriquée à partir de latex du clone GT1 (CA10CIP11). Un conditionnement de 60 h permet de réduire considérablement le phénomène de co-élution. Deux épaulements sont ainsi observés à 12,8 et 14,4 min, et correspondent aux microagrégats qui éluent à des temps plus courts que les pelotes statistiques. La séparation obtenue entre microagrégats et pelotes statistiques n'est cependant pas optimale. Le conditionnement des colonnes durant une semaine (168 h) avant le lancement des analyses permet d'améliorer cette séparation. Les temps d'élution des microagrégats sont ainsi réduits, et un pic est clairement identifiable à 13,7 min. Notons qu'un épaulement à 12 min est également visible, traduisant la présence d'une seconde population de microagrégats. Cependant, même pour cette durée de conditionnement, la séparation des microagrégats et des pelotes statistiques de fortes masses molaires reste imparfaite, un retour à la ligne de base n'étant pas observé entre les deux pics sur le chromatogramme correspondant (Figure 32). Toutefois, ce traitement permet une estimation de la quantité de microagrégats de taille inférieure à 1 μm (Microgel_{<1 μ}), ainsi qu'une caractérisation plus juste de la structure des pelotes statistiques. Par exemple, pour un même temps d'élution, la masse molaire moyenne en poids (M_w) des pelotes statistiques calculée pour le traitement de 168 h est inférieure à celle calculée pour des colonnes non traitées, le traitement de 60 h donnant des résultats intermédiaires. Un conditionnement préalable des colonnes de SEC d'une durée d'une semaine a donc été mis en place avant

toute analyse visant à caractériser les microagrégats de tailles inférieures à 1 µm d'une gomme. L'influence de la concentration en TBABr, fixée à 0,3% m/v par Kim *et al.* ^[74], sur la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques pourrait faire l'objet d'une étude plus approfondie.

2.2. Caractérisation des microagrégats de tailles inférieures à 1 µm

Le conditionnement préalable des colonnes de SEC permet ainsi une caractérisation des microagrégats en solution dans la fraction soluble filtrée à 1 µm. De plus, la séparation des microagrégats permet d'évaluer plus justement la structure des pelotes statistiques. La figure 33 présente l'évolution des masses molaires M_{wi} et des rayons de giration R_{gi} en fonction du temps d'élution, lors de l'analyse SEC-MALS de la fraction soluble de la gomme CA10CIP11. Deux populations de microagrégats, notées respectivement (1) et (2), sont définies à partir du signal de diffusion de la lumière à 90° et du signal du réfractomètre (RI), en accord avec les observations réalisées par Kim *et al.* ^[74]. Les deux populations de microagrégats sont présentes dans des proportions différentes (Tableau 13) : la première population (11,5 – 12,9 min) représente environ 2,2% (m/m) de la masse du caoutchouc naturel alors que la proportion de microagrégats de la seconde population (12,9 – 14,2 min) s'élève à 6,5% (m/m). Ces microagrégats présentent également des structures différentes (Tableau 14). La première population est constituée de microagrégats présentant des masses molaires moyennes plus élevées et des rayons de giration plus faibles que la seconde population. Ces microagrégats plus lourds et plus petits sont ainsi plus denses que ceux de la seconde population. Un paramètre de densité moléculaire apparente (d_{app}) est introduit pour caractériser les différents microagrégats (Eq. 8). Dans ce modèle, les microagrégats sont supposés sphériques.

$$d_{app} (kg.m^{-3}) = \frac{M_n (kg.mol^{-1})}{N_A (mol^{-1}) \cdot \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R_g^3 (m^3)} \quad (Eq. 8)$$

M_n : Masse molaire moyenne en nombre ;

N_A : Nombre d'Avogadro ;

R_g : Rayon de giration.

Les premiers microagrégats (1) paraissent ainsi 60% plus denses ($d_{app} = 1,53 \text{ kg.m}^{-3}$; Tableau 14) que les microagrégats de la deuxième population ($d_{app} = 0,95 \text{ kg.m}^{-3}$). Notons également que les indices de polydispersité des deux fractions de microagrégats sont proches de l'unité, et traduisent une homogénéité des masses molaires des microagrégats au sein des deux populations. Ces microagrégats paraissent toutefois moins lourds que ceux reportés par Kim *et al.* ^[74], qui ont mesuré des masses molaires moyennes en nombre (M_n) respectives de 12400 et 4400 kg/mol pour les populations (1) et (2) d'une gomme de grade TSR10. Le ratio entre les masses molaires moyennes des deux populations n'est également pas retrouvé.

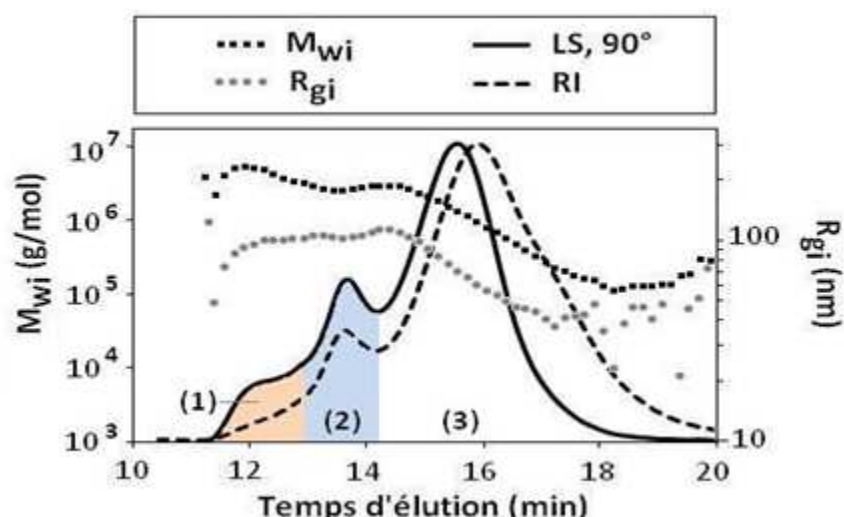


Figure 33. Analyse SEC-MALS d'une solution de caoutchouc naturel (CA10CIP11) après 168 h de conditionnement des colonnes B avec une solution de TBABr à 0,3% m/v dans du THF stabilisé. Deux populations de microagrégats (1-2) sont observables et éluent avant les pelotes statistiques (3).

Tableau 13. Proportions des différentes fractions en présence dans la gomme CA10CIP11, quantifiées par SEC-MALS en mode TBABr. Le taux de Gel_{>1μ}, comportant le Macrogel et le Microgel_{>1μ}, est calculé à partir du taux de recouvrement.

| Fraction | Microagrégats Population 1 | Microagrégats Population 2 | Microgel _{<1μ} | Pelotes statistiques | Fraction soluble | Gel _{>1μ} |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------------|
| # Figure 33 | (1) | (2) | (1) + (2) | (3) | (1) + (2) + (3) | 100% - [(1) + (2) + (3)] |
| Proportion (% m/m) | 2,2 (18%) | 6,5 (5%) | 8,7 (8%) | 59,8 (4%) | 68,5 (4%) | 31,5 (9%) |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

La dispersion des résultats obtenus (Tableau 14) est plus importante pour les microagrégats les plus denses (1). Par exemple, la dispersion mesurée sur les masses molaires moyennes varie entre 12% et 22% pour la première population, et ne dépasse pas 8% pour la seconde population. Concernant la quantification des microagrégats (Tableau 13), la dispersion sur les proportions mesurées est de 18% pour les microagrégats les plus denses (1), et seulement de 5% pour les autres (2). Les coefficients de variation importants pour la première population de microagrégats, sont causés par de trop faibles concentrations qui engendrent des signaux faibles en diffusion de la lumière (LS, 90°) et surtout en réfractométrie (RI). La dispersion des résultats peut être réduite en intégrant les deux populations de microagrégats simultanément (1 + 2). Un taux de Microgel_{<1μ} est ainsi calculé, et correspond à la somme des quantités de microagrégats des deux populations (Tableau 13). Les paramètres structuraux moyens calculés sont alors pondérés par les proportions de microagrégats des deux populations (Tableau 14). Pour la suite de ces travaux, les deux populations de microagrégats seront ainsi intégrées simultanément.

Tableau 14. Paramètres structuraux des différentes populations détectées par SEC-MALS après conditionnement des colonnes au TBABr, pour la fraction soluble filtrée à 1 μm de la gomme CA10CIP11.

| Fraction intégrées | M_n (kg/mol) | M_w (kg/mol) | M_z (kg/mol) | I | R_g (nm) | d_{app} (kg/m ³) |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-----------|---------------|-----------------------------------|
| Microagrégats : | | | | | | |
| Population 1 (1) | 2283 (12%) | 2412 (15%) | 2620 (22%) | 1,05 (4%) | 84,1 (2%) | 1,53 (19%) |
| Population 2 (2) | 1834 (8%) | 1849 (8%) | 1863 (8%) | 1,01 (0%) | 91,5 (1%) | 0,95 (5%) |
| Microgel _{<1μ} (1)+(2) | 1928 (9%) | 1989 (10%) | 2094 (13%) | 1,03 (2%) | 89,3 (0%) | 1,07 (8%) |
| Pelotes statistiques (3) | 479 (5%) | 916 (4%) | 1423 (7%) | 1,92 (9%) | 80,0 (0%) | - |
| Fraction soluble (1)+(2)+(3) | 530 (5%) | 1053 (5%) | 1585 (9%) | 1,99 (9%) | 82,3 (0%) | - |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

Rappelons que l'utilisation de colonnes non conditionnées pour l'analyse de solutions de caoutchouc naturel en SEC-MALS, entraîne une surestimation des masses molaires des pelotes statistiques, causée par la co-élution des microagrégats. Le conditionnement des colonnes avec une solution de TBABr permet d'évaluer cette surestimation (Tableau 14). En effet, les masses molaires moyennes calculées pour l'ensemble de la fraction soluble (1-3) sont de 10 à 15% plus élevées que les masses molaires des pelotes statistiques seules (3). La séparation entre microagrégats et pelotes statistiques n'étant pas complète (Figure 33), il est probable que l'impact des microagrégats sur les masses molaires calculées avec des colonnes non conditionnées soit supérieur à 15%.

Enfin, le traitement préalable des colonnes utilisées en SEC-MALS permet de définir un nouvel indicateur pour la caractérisation des gommages de caoutchouc naturel. Jusqu'à présent, le Microgel_{<1 μ} n'étant pas quantifiable, le taux de « gel total » calculé par Bonfils *et al.* [8, 71, 74] correspondait uniquement à la quantité de Gel_{>1 μ} . La séparation des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm et des pelotes statistiques, engendrée par le conditionnement des colonnes de SEC avec une solution de TBABr, permet de quantifier le Microgel_{<1 μ} . Un nouveau taux de « gel total » est ainsi introduit, et correspond à la somme de la fraction de gel éliminée par filtration (Gel_{>1 μ}), et du microgel de taille inférieure à 1 μm (Microgel_{<1 μ}).

2.3. Répétabilité des analyses SEC-MALS en mode TBABr

Afin d'étudier la répétabilité des analyses SEC-MALS en mode TBABr, une même solution préparée à partir de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1) et filtrée à 1 μm , a été injectée de façon répétée sur des colonnes traitées. Après 168 h de conditionnement des colonnes de SEC avec une solution de TBABr, la phase mobile est d'abord remplacée par du THF stabilisé. Les injections successives ont été réalisées entre 2,5 et 35 h après ce changement de solvant.

Une période d'instabilité de la séparation entre les microagrégats ($\text{Microgel}_{<1\mu}$) et les pelotes statistiques de la fraction soluble filtrée à $1\mu\text{m}$, a ainsi été mise en évidence (Figure 34A). Les temps d'élution des microagrégats fluctuent durant les douze premières heures suivant la fin du conditionnement des colonnes. Pendant cette période, la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques est instable. Après cette phase de stabilisation des colonnes, les chromatogrammes obtenus sont identiques jusqu'à la fin de l'étude, i.e. 35 h après la fin du conditionnement des colonnes. Cette période d'instabilité de la séparation est probablement causée par le changement de phase mobile, qui pourrait entraîner une reconfiguration progressive de la structure (gonflement, porosité) du gel contenu dans les colonnes de SEC.

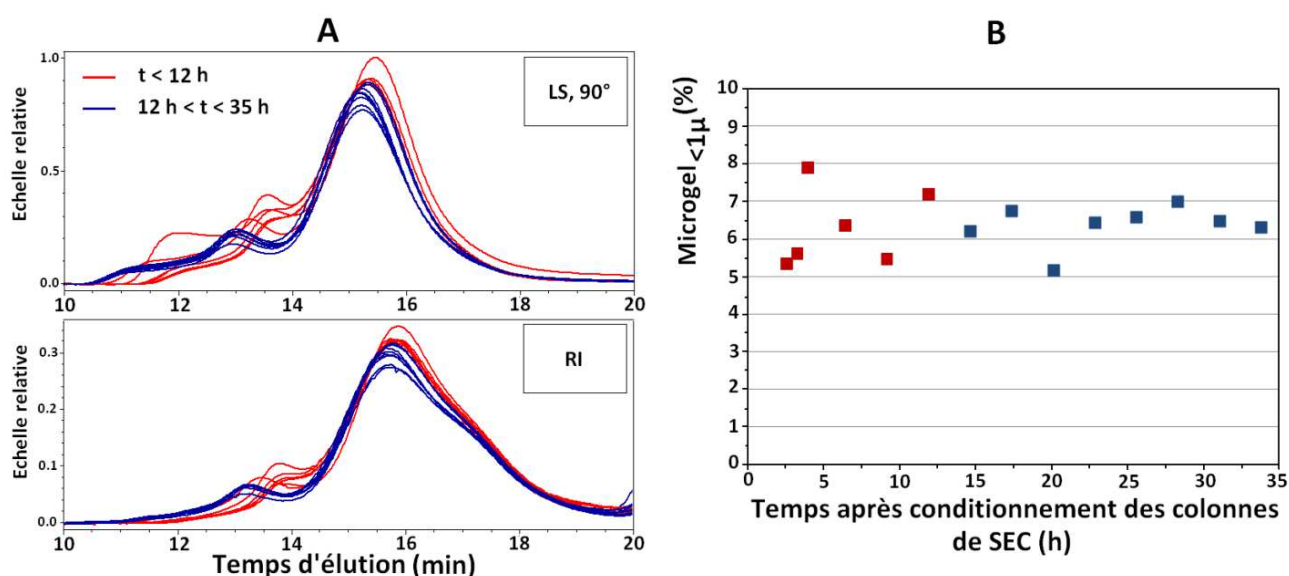


Figure 34. Evolution de la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques (A) et du taux de microagrégats de tailles inférieures à $1\mu\text{m}$ ($\text{Microgel}_{<1\mu}$) mesuré (B) lors d'injections répétées d'une même solution de caoutchouc naturel (CA10CIP11), en SEC-MALS en mode TBABr. La séparation est instable durant les 12 premières heures (rouge) suivant le conditionnement des colonnes.

L'évolution de la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques influe sur le taux de $\text{Microgel}_{<1\mu}$ mesuré (Figure 34B). La quantité de microagrégats varie ainsi de façon importante (5,3-7,9% m/m) durant les 12 premières heures. L'amplitude de variation du taux de $\text{Microgel}_{<1\mu}$ est réduite (5,2-7,0% m/m) après stabilisation des colonnes de SEC. Durant la période d'instabilité, les masses molaires moyennes ($2150 < M_w < 2940\text{ kg/mol}$) et les rayons de giration ($70 < R_g < 110\text{ nm}$) calculés pour les microagrégats évoluent également de façon importante (Figure 35). Une stabilisation de ces paramètres structuraux est observée après 12 h ($1730 < M_w < 2090\text{ kg/mol}$; $82 < R_g < 88\text{ nm}$). La mésostructure moyenne de l'échantillon, déterminée à partir des injections successives, est également impactée par cette période d'instabilité (Tableau 15). Globalement, les masses molaires moyennes et les rayons de giration sont plus importants lorsque toutes les injections (A : 2,5-35 h) sont considérées. La prise en compte de la période d'instabilité conduit à une diminution des

paramètres structuraux moyens (B : 12-35 h). La dispersion des résultats est également considérablement réduite. Par exemple, les coefficients de variation mesurés sur les masses molaires moyennes des microagrégats sont de l'ordre de 19-23% pour la totalité des injections, et seulement de 8-10% pour les injections réalisées après stabilisation. Notons que les pelotes statistiques sont moins impactées par cette période d'instabilité (Figure 35). La dispersion des paramètres structuraux des pelotes statistiques est tout de même réduite ($CV < 5\%$) lorsque seules les injections réalisées après 12 h sont prises en considération (Tableau 15).

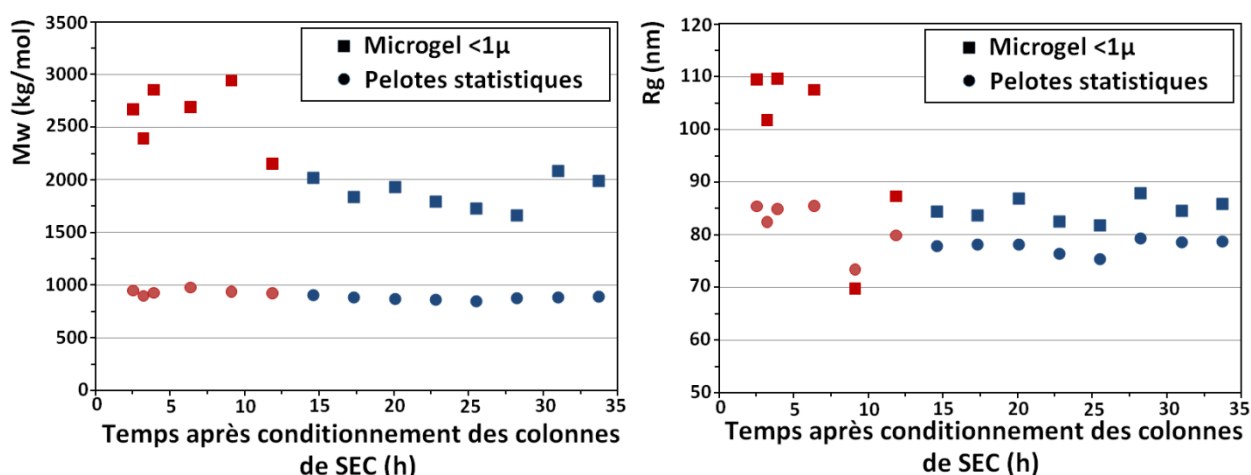


Figure 35. Evolution des masses molaires moyennes en poids (M_w) et des rayons de giration (R_g) mesurés pour les microagrégats ($\text{Microgel}_{<1\mu}$) et les pelotes statistiques d'une même solution de caoutchouc naturel (CA10CIP11) injectée de façon répétée en SEC-MALS en mode TBABr.

Ainsi, l'utilisation de la SEC-MALS en mode TBABr est une technique relativement répétable, qui permet notamment de quantifier et de caractériser les microagrégats de tailles inférieures à $1\ \mu\text{m}$, présents dans la fraction soluble du caoutchouc naturel. La dispersion des résultats obtenus n'excède pas 10%, après stabilisation des colonnes. La période d'instabilité des colonnes a été prise en compte pour la suite de ces travaux de thèse, le lancement de chaque série d'injections s'effectuant au moins 12 h après l'étape de changement de phase mobile.

Notons que même après stabilisation des colonnes, une évolution des paramètres structuraux est également visible lorsque des injections séparées d'un intervalle de temps suffisamment important sont comparées (Figure 35). Afin de prendre en compte au mieux ce problème de variation de la technique dans la suite de ces travaux de thèse, les trois solutions préparées à partir d'un même échantillon n'ont pas été injectées de manière successive (Figure 14).

Tableau 15. Mésostructure moyenne de l'échantillon CA10CIP11 (TSR10, GT1), pour des injections réalisées en SEC-MALS en mode TBABr, entre 0 et 35 h (A), et entre 12 et 35 h (B) après la fin du conditionnement des colonnes de SEC. La période d'instabilité de la séparation des microagrégats et des pelotes statistiques (12 premières heures) influe sur la dispersion des résultats.

| | A : 0-35 h | B : 12-35 h |
|---------------------------------------|-------------|-------------|
| Taux de gels : | | |
| Gel _{>1μ} (% m/m) | 39,6 (6%) | 41,0 (5%) |
| Microgel _{<1μ} (% m/m) | 6,3 (12%) | 6,4 (8%) |
| Gel total (% m/m) | 46,0 (5%) | 47,3 (4%) |
| Microagrégats : | | |
| M _n (kg/mol) | 2 093 (19%) | 1 798 (8%) |
| M _w (kg/mol) | 2 197 (20%) | 1 883 (8%) |
| M _z (kg/mol) | 2 355 (23%) | 2 003 (10%) |
| I | 1,05 (4%) | 1,05 (1%) |
| R _g (nm) | 90,3 (13%) | 84,8 (2%) |
| d _{app} (kg/m ³) | 1,21 (44%) | 1,17 (10%) |
| Pelotes statistiques : | | |
| M _n (kg/mol) | 483 (10%) | 472 (4%) |
| M _w (kg/mol) | 904 (4%) | 881 (2%) |
| M _z (kg/mol) | 1 419 (6%) | 1 370 (2%) |
| I | 1,88 (8%) | 1,87 (3%) |
| R _g (nm) | 79,6 (5%) | 77,9 (2%) |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation correspondants.

2.4. Reproductibilité des analyses SEC-MALS en mode TBABr

La reproductibilité du conditionnement des colonnes de SEC a également été étudiée, à travers l'analyse répétée de quatre gommes issues du projet CANAOPT. Les colonnes ont été traitées une semaine puis stabilisées 12 h, avant chacune des trois séries d'injections mises en place (chronologiquement : #1 = 04/2014, #2 = 07/2014 et #3 = 08/2014). La figure 36 présente l'évolution des chromatogrammes pour la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1). Une bonne reproductibilité de la séparation entre microagrégats et pelotes statistiques est observée : les volumes d'élution mesurés pour les microagrégats sont identiques pour les trois séries d'injections. Des différences sont cependant observables entre les différents chromatogrammes. Par exemple, les microagrégats de la série #3 seraient moins lourds que ceux analysés durant les séries #1 et #2.

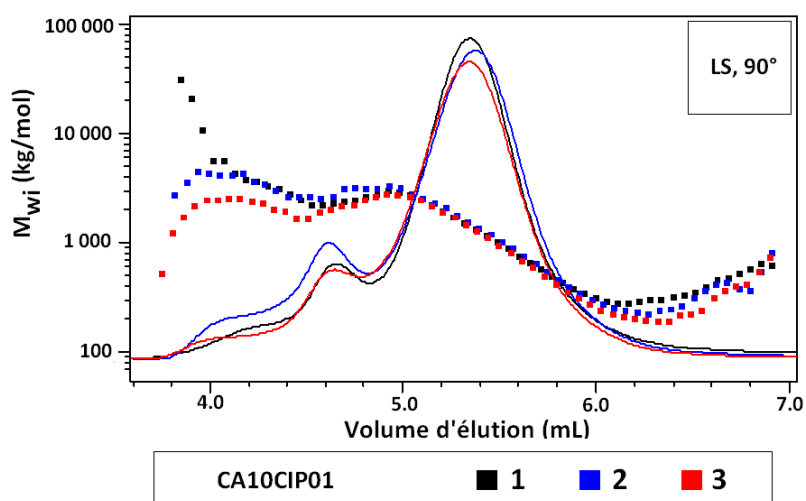


Figure 36. Chromatogrammes obtenus en SEC-MALS en mode TBABr pour la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1) lors de trois séries d’injections différentes (#1 : 04/2014, #2 : 07/2014, et #3 : 08/2014).

Les paramètres structuraux calculés à partir de ces trois séries d’injections ont ensuite été comparés, pour les quatre gommes étudiées (Figure 37). Des différences importantes sont observées entre les trois séries. Par exemple, la série #3 présente ainsi les masses molaires moyennes les plus faibles pour les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm . La série #2 se distingue au niveau des rayons de giration plus importants des microagrégats et des pelotes statistiques, pour l’ensemble des quatre gommes. Notons que les rayons de giration des pelotes statistiques de la deuxième série sont du même ordre de grandeur que les rayons de giration des microagrégats des deux autres séries. Des différences sont également observées au niveau des taux de gels. La série #3 présente des taux de gel total supérieurs (+ 5%), pouvant correspondre à un vieillissement du matériau. Cependant, l’évolution des taux de Microgel_{<1 μ} semble plutôt traduire une mauvaise reproductibilité des analyses SEC-MALS en mode TBABr. En effet, les taux de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm , sont de l’ordre de 8-15% pour la série #2 et de 5-8% pour les séries #1 et #3.

Ainsi, même si des volumes d’élution identiques ont été mesurés pour les microagrégats (Figure 36), chacune des trois séries conduit à des mésostructures différentes (Figure 37). La caractérisation de gommes de caoutchouc naturel par SEC-MALS en mode TBABr est donc peu reproductible dans le temps et des échantillons analysés lors de séries d’injections différentes sont difficilement comparables. Cependant, une comparaison peut être réalisée entre des gommes analysées lors d’une même série d’injections. En effet, la mésostructure des quatre échantillons étudiés évolue de la même façon entre les trois séries. Par exemple, la gomme CA10CIP21 présente toujours les microagrégats les plus légers, ainsi que les taux de gel total les plus importants, quelque soit la série d’analyse. Par conséquent, dans la suite de ces travaux de thèse, seuls des échantillons analysés lors d’une même série d’injections, pourront être comparés.

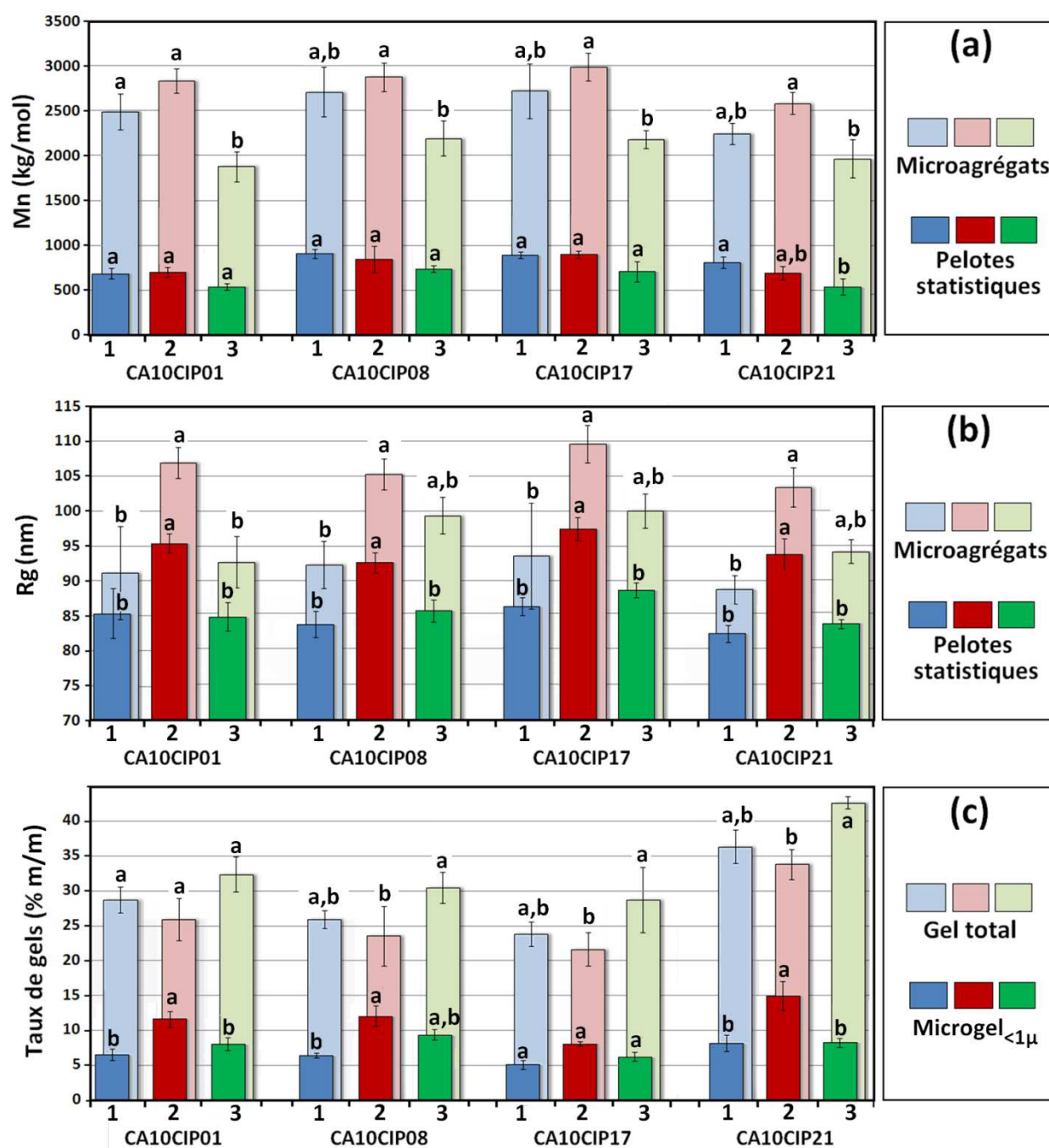


Figure 37. Masses molaires moyennes en nombre (a), rayons de giration (b) et taux de gels (c) mesurés par SEC-MALS en mode TBABr pour quatre gommes du projet CANAOPT lors de trois séries d'injections différentes (#1 : 04/2014, #2 : 07/2014 et #3 : 08/2014). Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

2.5. Conclusions

Le conditionnement des colonnes de chromatographie d'exclusion stérique (SEC) avec une solution de bromure de tétrabutylammonium (TBABr) à 0,3% (m/v) dans du THF stabilisé, offre la possibilité de séparer les microagregats et les pelotes statistiques, présents dans la fraction soluble filtrée à 1 μm d'une gomme de caoutchouc naturel. L'utilisation de

colonnes traitées au TBABr permet ainsi de quantifier et de caractériser les microagrégats de taille inférieure à 1 μm , constituant le Microgel_{<1 μ} . L'évaluation des paramètres structuraux des pelotes statistiques est également moins perturbée par le phénomène de co-élution des microagrégats avec les chaînes courtes, observé sur des colonnes non-conditionnées (Figure 32).

Les travaux préliminaires visant à optimiser les conditions de traitement et d'utilisation des colonnes, ont permis de mettre en évidence certaines limitations de la méthode. Tout d'abord, la durée de conditionnement fixée de manière empirique à une semaine, ne permet pas une utilisation continue des colonnes de SEC. Une période de stabilisation des colonnes d'une douzaine d'heures après la fin du conditionnement, est également à prendre en compte. La SEC-MALS en mode TBABr permet ensuite d'obtenir des résultats relativement répétables, avec des coefficients de variation inférieurs à 10%, au sein d'une même série d'injections. Toutefois, cette technique est actuellement peu reproductible et des différences importantes ont été observées au niveau de la mésostructure de gommex, analysées lors de séries d'injections différentes. Des injections indépendantes, réalisées lors de séries différentes, ne peuvent donc pas être comparées dans l'état actuel de la technique. Les échantillons analysés par SEC-MALS en mode TBABr dans la suite de ces travaux de thèse, ont donc été injectés en une seule série, limitant ainsi le nombre de gommex étudiées.

La période de stabilisation des colonnes, observées durant les 12 premières heures après la fin du conditionnement, permet d'émettre quelques hypothèses quant aux mécanismes intervenant dans la séparation des microagrégats. En effet, l'instabilité décrite est observée lors du changement de phase mobile. La solution de TBABr à 0,3% (m/v) dans du THF stabilisé, est remplacée par du THF stabilisé, entraînant probablement une modification progressive du taux de gonflement du gel poreux des colonnes de SEC. Lors de la phase de conditionnement, l'ajout de TBABr dans la phase mobile entrainerait de la même façon une reconfiguration de la structure des colonnes, ainsi qu'une réduction de la taille des pores du gel. Ce phénomène pourrait être amplifié par l'accumulation de TBABr dans le gel poreux, entraînant localement des concentrations bien supérieures à 0,3% (m/v). Ainsi, les microagrégats de la fraction soluble seraient alors trop volumineux et ne seraient plus retenus dans ces pores de tailles réduites. Des travaux supplémentaires, nécessaires pour permettre une utilisation de la technique en routine, pourraient venir confirmer les mécanismes proposés.

3. Caractérisation des propriétés rhéologiques

Une méthode de caractérisation des propriétés rhéologiques des gommex issues du projet CANAOPT, ainsi que des fractions solubles et insolubles associées, a été développée

afin de mener à bien ces travaux de thèse. Plusieurs systèmes de mesure, tels que le viscosimètre Mooney ou le RPA 2000 (*Rubber process analyzer*) ^[99] permettent déjà d'apprécier les propriétés rhéologiques du caoutchouc naturel. Ces outils sont très répandus dans l'industrie des élastomères, mais nécessitent des quantités de matière relativement importantes, de l'ordre de la dizaine de grammes. Ces quantités sont disponibles dans le cas des gommes brutes du projet CANAOPT. Au contraire, l'analyse des fractions solubles et insolubles du caoutchouc naturel nécessite des extractions préliminaires, limitant ainsi les quantités de matière disponibles. Par exemple, pour une gomme présentant un taux de macrogel de 10% (m/m), et pour une mise en solution réalisée à 1 g/L dans un bon solvant du poly(*cis*-1,4-isoprène), l'extraction de 10 g de macrogel pour la réalisation d'une seule mesure, nécessiterait 100 L de solution. Ces deux outils sont donc inadaptés à l'étude des fractions isolées du caoutchouc naturel. L'analyse des propriétés rhéologiques des différents échantillons en solution a également été écartée de par la volatilité des bons solvants du caoutchouc naturel.

Une attention particulière a donc été portée quant au développement d'une méthode de caractérisation du caoutchouc naturel par analyse thermomécanique dynamique (DMTA), qui nécessite des prises d'essais de l'ordre de la centaine de milligrammes. Dans le cas du macrogel du caoutchouc naturel, ces quantités sont relativement accessibles et autorisent des répétitions de chacune des mesures à réaliser.

3.1. Géométrie des éprouvettes à analyser

Des essais préliminaires ont permis de sélectionner la géométrie la plus adaptée à l'étude des propriétés rhéologiques de nos matériaux, par DMTA. Deux géométries d'éprouvettes ont ainsi été étudiées, pour une gomme TSR10 fabriquée à partir de latex du clone GT1. Des mesures ont d'abord été réalisées en traction-compression (A ; Figure 38) sur des éprouvettes rectangulaires mises en forme sous presse, à température ambiante (A-1 ; Tableau 16) ou à température élevée (A-2). Ce type de géométrie permet de mesurer les contributions élastique (E') et visqueuse (E'') du module d'Young complexe (E^*) du matériau. Dans un second temps, des éprouvettes cylindriques (B ; Figure 38) ont été sollicitées en double cisaillement. Cette géométrie permet de mesurer les modules de conservation (G') et de perte (G'') en cisaillement ^[101, 129]. Ces éprouvettes ont été fabriquées par collage manuel (B-1) ou assisté (B-2) d'une plaque de caoutchouc naturel mise en forme sous presse chauffante, sur des plots métalliques cylindriques, avec une colle cyanoacrylate commerciale. Pour chaque série de mesures, des balayages en fréquence (1-100 Hz) ont été réalisés à faible déformation (1%), dans le domaine linéaire.

La dispersion moyenne des propriétés rhéologiques mesurées pour chacun des essais, a ensuite été comparée (Tableau 16). Globalement, la dispersion observée lors des essais en traction-compression (A) est plus importante que pour des mesures en double cisaillement (B). Les coefficients de variation importants mesurés en traction-compression, sont liés à la

difficulté de préparer des éprouvettes rectangulaires régulières avec un état de surface satisfaisant, à partir de gomme brute, i.e. non-vulcanisée. Dans le cas des éprouvettes rectangulaires, la dispersion plus importante obtenue lors du moulage sous presse chauffante (A-2) pourrait traduire une dégradation du matériau avec la température. Concernant les éprouvettes cylindriques utilisées en double cisaillement, l'utilisation du module de collage des éprouvettes, prêté par la société Anvis, permet de réduire la dispersion des résultats obtenus, et d'obtenir des coefficients de variation très satisfaisants ($CV < 5\%$).

Ainsi, une très bonne répétabilité des mesures réalisées en double cisaillement a été observée. Cette géométrie a été sélectionnée pour l'étude des propriétés rhéologiques de nos matériaux. L'utilisation du module de collage permet d'améliorer la dispersion des résultats, et a donc été intégrée dans la méthode de préparation des éprouvettes cylindriques.

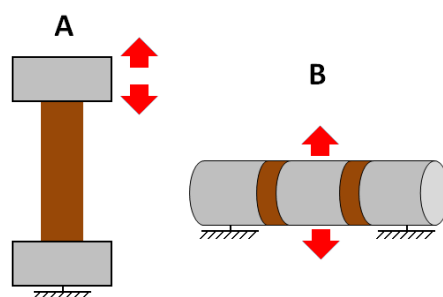


Figure 38. Géométries étudiées lors des essais préliminaires réalisés en analyse thermomécanique dynamique (DMTA) : Traction-compression (A) ; Double cisaillement (B).

Tableau 16. Dispersion des mesures réalisées en DMTA, pour plusieurs géométries d'éprouvettes, lors de balayages en fréquence (1-100 Hz) à faible déformation (1%), et à 25°C.

| Essais | Géométrie de mesure | Conditions de préparation des éprouvettes | | | | Coefficients de variation | | |
|--------|----------------------|---|-------------------|------------------|--------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| | | Température de presse | Temps sous presse | Pression exercée | Collage | Module élastique (E' ou G') | Module visqueux (E'' ou G'') | Facteur d'amortissement (tanδ) |
| A-1 | Traction-compression | 25°C | 30 min | 300 bars | - | 29% | 29% | 7% |
| A-2 | Traction-compression | 80°C | 15 min | 200 bars | - | 42% | 42% | 17% |
| B-1 | Double cisaillement | 158°C | 30 s | 125 bars | Manuel | 6% | 6% | 2% |
| B-2 | Double cisaillement | 158°C | 30 s | 125 bars | Module Anvis | 4% | 3% | 2% |

3.2. Mise en forme des échantillons avant collage

L'intérêt a ensuite été porté sur la méthode de préparation des plaques de caoutchouc naturel utilisées dans la conception des éprouvettes utilisées en double cisaillement. Les plaques précédemment utilisées ayant été mises en forme par presse chauffante, l'influence de la température sur les propriétés rhéologiques du matériau a donc fait l'objet d'une première étude.

3.2.1. *Mise en forme par presse chauffante : Influence de la température*

Afin d'étudier l'influence de la température sur les propriétés rhéologiques mesurées, des plaques de caoutchouc naturel ont été moulées sur une presse chauffante (200 bars) dans des conditions différentes : 50°C - 30 min (1) ; 80°C - 15 min (2) ; 120°C - 5 min (3) et 160°C - 5 min (4). Deux gommes issues du projet CANAOPT ont été sélectionnées pour cette étude (CA10CVCIP04 et CA10CIP08). Des éprouvettes cylindriques ont été fabriquées à partir de chacune des plaques moulées, afin d'en mesurer les propriétés rhéologiques en double cisaillement. La figure 39 montre l'évolution des modules de cisaillement G' et G'' ainsi que du facteur d'amortissement ($\tan\delta$) des deux gommes étudiées, à une fréquence de sollicitation de 1 Hz, en fonction de la température de moulage des plaques. L'augmentation de la température de moulage, entraîne une diminution du module élastique G' , et une augmentation du facteur d'amortissement. Le module visqueux G'' est également impacté par la température de la presse. Par exemple, une diminution de G'' jusqu'à 120°C, suivie d'une augmentation à 160°C, est observée pour la gomme CA10CIP08. Cette évolution des propriétés rhéologiques avec la température de pressage, suggère une évolution structurale progressive du matériau qui pourrait être causée par un phénomène de thermo-oxydation. Au niveau de la dispersion des résultats, les plaques préparées à 160°C paraissent plutôt inhomogènes puisque des coefficients de variation importants sont observés. Cette observation est en accord avec une probable oxydation du matériau à cette température. D'autre part, les plaques moulées à 50°C présentent les coefficients de variation les plus importants. Cette dispersion des propriétés rhéologiques peut être expliquée par le mauvais état de surface des plaques moulées à faible température, qui entraîne des difficultés lors de la fabrication des éprouvettes.

Ainsi, la mise en forme des plaques par presse chauffante ne semble pas adaptée à la conception des éprouvettes cylindriques. En effet, une température de pressage trop élevée (e.g. 160°C) semble entraîner une évolution structurale importante du matériau, conduisant à une dégradation des propriétés rhéologiques. Au contraire, une température insuffisante ($T = 50^\circ\text{C}$) ne permet pas d'obtenir une plaque avec un état de surface satisfaisant, et conduit à une dispersion importante des propriétés rhéologiques. Par conséquent, la préparation des plaques de caoutchouc naturel par laminage, a été envisagée.

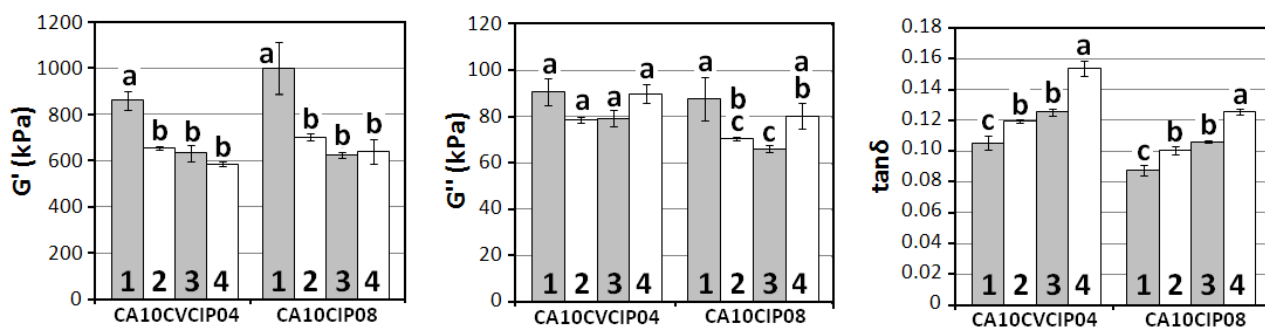


Figure 39. Propriétés rhéologiques de deux gommes (CA10CVCIP04 et CA10CIP08) mesurées en double cisaillement ($f=1$ Hz, $\epsilon=1\%$, $T=25^\circ\text{C}$) sur des plaques mises en forme sous presse (200 bars) dans des conditions différentes : (1) 50°C , 30 min ; (2) 80°C , 15 min ; (3) 120°C , 5 min ; (4) 160°C , 5 min. Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

3.2.2. Mise en forme par laminage

Le laminage des gommes de caoutchouc naturel sur mélangeur à cylindres est couramment utilisé pour préparer des plaques avec un bon état de surface. Ces plaques peuvent être utilisées pour une caractérisation de la composition du caoutchouc naturel par spectroscopie FT-IR (nouvelle méthode), mais également pour mesurer la plasticité Wallace P_0 et la résistance à la thermo-oxydation des gommes. Les plaques obtenues par laminage peuvent également être utilisées pour préparer les éprouvettes cylindriques destinées à des mesures de propriétés rhéologiques en double cisaillement (Figure 38B). Dans cette partie, l'influence de la sévérité du laminage sur les propriétés du matériau est discutée, afin d'établir les conditions optimales de préparation des plaques. Des plaques ont ainsi été préparées à partir de la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1), dans des conditions de laminage particulières (Figure 40). Des nombres différents de passes entre les cylindres du mélangeur utilisé, lors des étapes d'homogénéisation ($N_1 = 6$ ou 18) et de laminage ($N_2 = 4$ ou 10) de la gomme, ont permis d'obtenir les plaques notées A à D (Tableau 17). Trois plaques ont été préparées pour chacune des conditions de laminage. Pour chacune des plaques, la mésostructure a été caractérisée par SEC-MALS en mode TBABr, et les propriétés rhéologiques ont été mesurées en double cisaillement en DMTA. Des pastilles de même épaisseur ont été utilisées pour le collage des éprouvettes cylindriques.

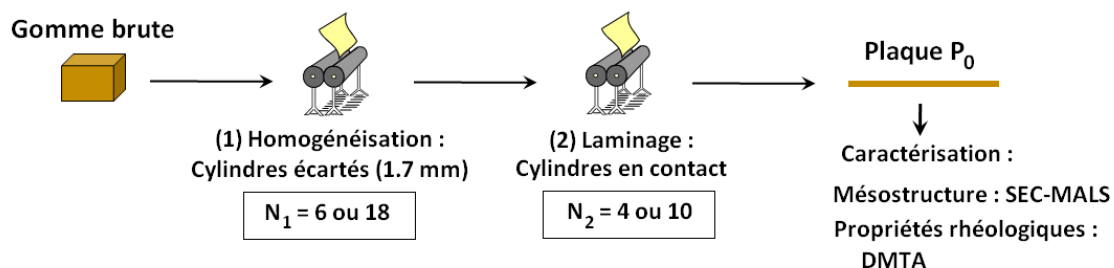


Figure 40. Préparation de plaques P_0 par laminage. Des nombres différents de passes entre les cylindres lors des étapes d'homogénéisation (N_1) et de laminage (N_2) permettent de faire varier la sévérité du laminage.

Tableau 17. Mésostructure des plaques P_0 , notées A à D, préparées à partir de la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1) dans des conditions de laminage différentes.

| Plaques | A | | | B | | | C | | | D | | |
|---|----------|-------|---|-----------|-------|-----|-----------|-------|-----|-----------|-------|-----|
| Conditions de préparation | | | | | | | | | | | | |
| Homogénéisation (1) | 6 passes | | | 6 passes | | | 18 passes | | | 18 passes | | |
| Laminage (2) | 4 passes | | | 10 passes | | | 4 passes | | | 10 passes | | |
| Taux de gels | | | | | | | | | | | | |
| Gel _{>1μ} (% m/m) | 24,5 | (22%) | a | 20,8 | (11%) | a | 23,2 | (19%) | a | 17,6 | (11%) | a |
| Macrogel (% m/m) | 13,5 | (8%) | a | 7,8 | (4%) | b | 12,6 | (12%) | a | 7,2 | (32%) | b |
| Microgel _{>1μ} (% m/m) | 8,0 | (3%) | b | 12,0 | (20%) | a | 8,2 | (22%) | b | 9,3 | (26%) | a,b |
| Microgel _{<1μ} (% m/m) | 9,7 | (21%) | a | 9,7 | (2%) | a | 9,3 | (14%) | a | 9,1 | (9%) | a |
| Gel total (% m/m) | 34,3 | (10%) | a | 30,5 | (7%) | a,b | 32,6 | (9%) | a,b | 26,7 | (5%) | b |
| Pelotes statistiques | | | | | | | | | | | | |
| Mn (kg/mol) | 639 | (6%) | a | 510 | (3%) | b | 545 | (2%) | b | 414 | (3%) | c |
| Mw (kg/mol) | 1040 | (2%) | a | 867 | (1%) | c | 940 | (2%) | b | 729 | (2%) | d |
| Mz (kg/mol) | 1488 | (0%) | a | 1314 | (2%) | c | 1381 | (2%) | b | 1127 | (2%) | d |
| I | 1,63 | (5%) | b | 1,70 | (3%) | a,b | 1,73 | (1%) | a,b | 1,76 | (2%) | a |
| Rg (nm) | 83,7 | (2%) | a | 79,2 | (1%) | b | 79,6 | (2%) | b | 71,4 | (1%) | c |
| Microagrégats (Microgel _{<1μ}) | | | | | | | | | | | | |
| Mn (kg/mol) | 2206 | (1%) | a | 2051 | (3%) | a,b | 2012 | (5%) | b | 1790 | (2%) | c |
| Mw (kg/mol) | 2283 | (1%) | a | 2145 | (2%) | a,b | 2079 | (5%) | b | 1903 | (1%) | c |
| Mz (kg/mol) | 2390 | (0%) | a | 2284 | (1%) | a,b | 2176 | (5%) | b,c | 2067 | (2%) | c |
| I | 1,04 | (1%) | b | 1,05 | (1%) | a,b | 1,03 | (0%) | b | 1,06 | (2%) | a |
| Rg (nm) | 94,8 | (2%) | a | 90,0 | (2%) | a | 90,1 | (4%) | a | 80,7 | (4%) | b |
| d _{app} (kg/m ³) | 1,03 | (6%) | b | 1,12 | (5%) | b | 1,09 | (9%) | b | 1,35 | (9%) | a |
| Fraction soluble | | | | | | | | | | | | |
| Mn (kg/mol) | 703 | (4%) | a | 562 | (3%) | b | 598 | (3%) | b | 452 | (3%) | c |
| Mw (kg/mol) | 1200 | (1%) | a | 1023 | (1%) | c | 1079 | (3%) | b | 860 | (2%) | d |
| Mz (kg/mol) | 1708 | (2%) | a | 1563 | (2%) | b | 1568 | (4%) | b | 1358 | (1%) | c |
| I | 1,71 | (5%) | b | 1,82 | (4%) | a,b | 1,80 | (0%) | a,b | 1,90 | (2%) | a |
| Rg (nm) | 86,5 | (2%) | a | 82,1 | (2%) | b | 82,2 | (3%) | b | 73,8 | (2%) | c |

- o Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- o Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Les plaques préparées présentent des mésostructures très différentes (Tableau 17), traduisant clairement une influence des conditions de laminage. Des différences sont notamment observées au niveau des taux de gels des échantillons. Les étapes d'homogénéisation (1) et de laminage (2) entraînent ainsi une déstructuration du matériau. En effet, une augmentation de la sévérité du laminage conduit à une réduction des taux de gel total. Le macrogel est particulièrement impacté par ce phénomène : une diminution de 47% du taux de macrogel est observée entre les plaques A et D. Il est intéressant de noter que les taux de Microgel_{>1μ} et de Microgel_{<1μ} varient peu entre les différentes plaques. Les pelotes statistiques sont également impactées par les conditions de laminage. Une diminution progressive des masses molaires moyennes des pelotes statistiques peut ainsi être observée lorsque la sévérité du laminage augmente, traduisant une dégradation des chaînes macromoléculaires. La structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1μ} ; Tableau 17) évolue de la même façon. Les plaques D préparées dans les conditions de laminage les plus sévères, présentent les microagrégats les plus légers ($M_n = 1790$ kg/mol), avec de faibles rayons de giration (80,7 nm). A l'inverse, les plaques A préparées dans les conditions les moins sévères, présentent les microagrégats les plus lourds ($M_n = 2206$ kg/mol) et les plus volumineux ($R_g = 94,8$ nm). L'augmentation de la densité moléculaire apparente (d_{app}) des microagrégats avec la sévérité du laminage, traduit une déstructuration des microagrégats initialement présents.

Ainsi, le laminage des gommés de caoutchouc naturel est accompagné d'une déstructuration du matériau (diminution des taux de gel total, déstructuration des microagrégats) mais également d'une dégradation des pelotes statistiques. Cette influence du laminage sur la mésostructure des échantillons est également visible au niveau des propriétés rhéologiques (Figure 41). Les plaques A et C présentent des modules de conservation (G') plus importants, des facteurs d'amortissement ($\tan\delta$) plus faibles, et donc une plus grande élasticité que les plaques B et D. Les modules de perte (G'') aux faibles fréquences sont plus importants pour les plaques A et C. A plus haute fréquence ($f > 1$ Hz), les plaques B et D présentent des modules G'' plus élevés. Ces observations peuvent être expliquées par la mésostructure des différents échantillons (Tableau 17). En effet, les plaques A et C présentent des masses molaires moyennes ainsi que des taux de macrogel plus élevés que les plaques B et D.

Globalement, l'augmentation du nombre de passes lors de la phase de laminage (N_2 : de 4 à 10 passes) conduit à une déstructuration importante du macrogel, ainsi qu'à une dégradation des chaînes macromoléculaires (Tableau 17), se traduisant par une perte d'élasticité importante du matériau (Figure 41). La phase d'homogénéisation influence également sur la mésostructure et les propriétés rhéologiques du matériau. En effet, l'augmentation du nombre de passes (N_1 : de 6 à 18 passes) durant cette étape entraîne une légère diminution des masses molaires moyennes et des propriétés de la gomme. La dispersion des résultats obtenus en DMTA évolue également avec les conditions de

préparation des plaques (Figure 42). Les coefficients de variation mesurés sur les valeurs de G' et G'' à 25 et 100°C sont plus faibles pour les plaques A, préparées dans les conditions les moins sévères. Notons que les mesures réalisées à 100°C sont moins dispersées qu'à 25°C.

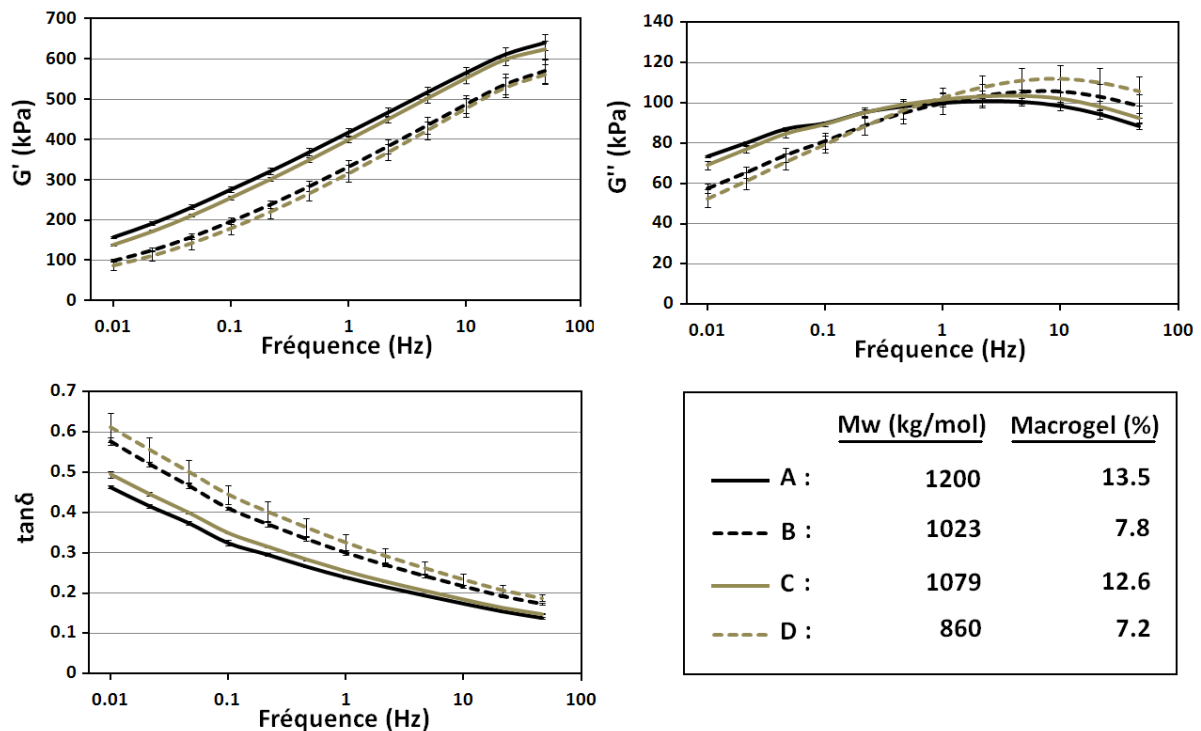


Figure 41. Evolution des propriétés rhéologiques de la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1), avec la fréquence de sollicitation à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à température élevée ($T=100^\circ\text{C}$), pour les quatre conditions de laminage étudiées (A à D).

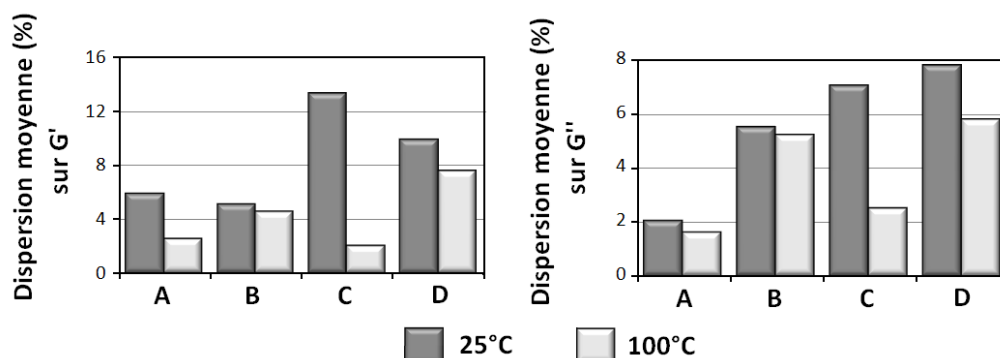


Figure 42. Evolution des coefficients de variation obtenus sur les modules de cisaillement lors de balayages en fréquence (0,01-50 Hz) à faible déformation ($\epsilon=2\%$), pour des mesures réalisées à 25°C et à 100°C sur des éprouvettes issues de plaques préparées dans des conditions de laminage particulières.

Ainsi, cette étude a permis de mettre en évidence l'influence des conditions de laminage sur les propriétés rhéologiques du matériau. Les échantillons préparés dans les conditions les moins sévères, sont moins dégradés. Concernant la préparation des plaques utilisées dans la conception des éprouvettes de DMTA, il semble important de limiter au maximum l'influence du laminage, en réduisant sa sévérité. Des conditions particulières ont ainsi été fixées pour la mise en forme des différentes gommes étudiées durant cette thèse. Les nombres de passes entre les cylindres du mélangeur ont été respectivement fixés à $N_1=6$ et $N_2=3$ pour les étapes d'homogénéisation et de laminage. Ces conditions permettent de préparer des plaques avec un bon état de surface, tout en limitant au maximum la dégradation du matériau. Le laminage étant accompagné d'une dégradation des gommes, il a été convenu de caractériser la mésostructure des échantillons étudiés en DMTA, directement à partir de la plaque laminée, et non sur l'échantillon initial. Ce compromis prend notamment tout son sens dans le deuxième chapitre de la partie expérimentale de cette thèse, dans lequel une relation entre la mésostructure et les propriétés rhéologiques est recherchée, pour un panel de gommes issues du projet CANAOPT.

3.2.3. Influence de la solvation

La méthode développée en DMTA pour la mesure de propriétés rhéologiques en double cisaillement, doit également permettre l'étude des fractions solubles et insolubles (macrogels) du caoutchouc naturel. L'extraction de ces fractions passe par une mise en solution du matériau, dans un bon solvant du polyisoprène. L'influence de cette étape de mise en solution sur les propriétés rhéologiques a donc été étudiée, à partir de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1). Une prise d'essai a été placée en solution dans du THF stabilisé, à une concentration de 7 g/L durant trois jours. Après évaporation du solvant sous hotte aspirante et séchage du caoutchouc récupéré (2 h à 30°C dans une étuve sous vide), les propriétés rhéologiques du matériau avant et après solvation ont été comparées (Figure 43). La gomme ayant subi une mise en solution présente ainsi des modules de conservation (G') plus faibles et des facteurs d'amortissement ($\tan\delta$) plus importants que la gomme non-solvatée, sur toute la gamme de fréquences étudiée. Les modules de perte (G'') ne semblent pas impactés, mais les résultats obtenus pour la gomme solvatée sont bien plus dispersés que pour la gomme brute. La perte d'élasticité observée pourrait être liée à une déstructuration du matériau durant la phase de mise en solution, ou à une oxydation du poly(*cis*-1,4-isoprène) menant à des chaînes macromoléculaires plus courtes. Ce résultat devra être pris en compte lors de l'étude des propriétés rhéologiques des différentes fractions du caoutchouc naturel. Par exemple, une moins grande élasticité de la fraction soluble pourrait être liée à cette étape de mise en solution et de séchage.

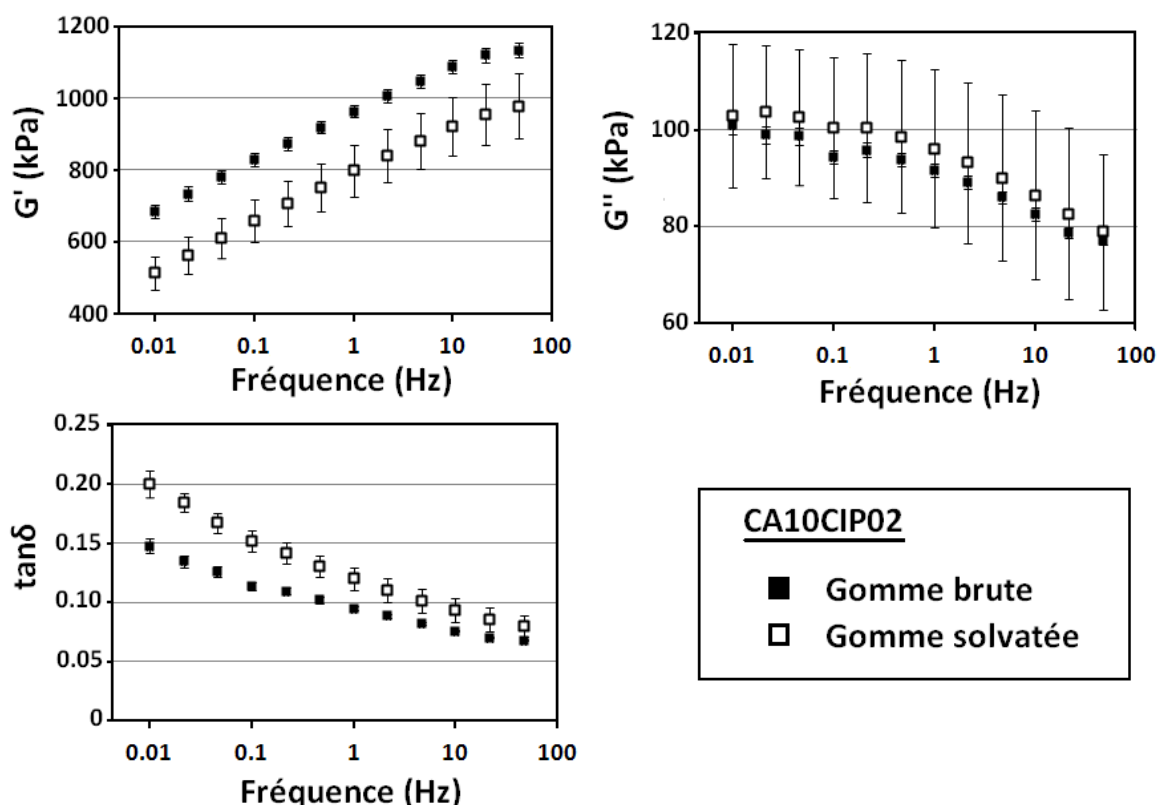


Figure 43. Influence de la solvation sur les propriétés rhéologiques de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1), mesurées à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à 25°C.

3.3. Optimisation de la préparation des éprouvettes

3.3.1. *Influence de l'épaisseur des pastilles de gommes*

Après la phase de laminage des gommes, les plaques préparées sont superposées afin d'obtenir des échantillons présentant des épaisseurs plus importantes. Des pastilles sont ensuite découpées dans ces plaques et sont utilisées pour la fabrication des éprouvettes cylindriques utilisées lors des mesures de propriétés rhéologiques. L'influence de l'épaisseur de ces pastilles sur les propriétés mesurées a été étudiée. Des éprouvettes ont été préparées à partir de pastilles d'épaisseur comprises entre 0,5 et 4,0 mm, pour deux gommes présentant des viscosités Mooney ($ML_{(1+4)}$) très différentes (CA10CIP02 : $ML_{(1+4)} = 91,1$; CA10CVCIP13 : $ML_{(1+4)} = 65,6$). Les propriétés rhéologiques de chacune des éprouvettes préparées ont ensuite été mesurées, à faible déformation (2% ; domaine linéaire), lors de balayages en fréquence (0,01-50 Hz). La figure 44 présente l'évolution de ces propriétés à une fréquence de sollicitation de 1 Hz, en fonction de l'épaisseur moyenne des pastilles. Une diminution des modules de cisaillement élastique (G') et visqueux (G'') mesurés pour les deux gommes est observée lorsque l'épaisseur moyenne des pastilles est augmentée. Cette évolution des modules est accompagnée d'une augmentation moins marquée du facteur d'amortissement ($\tan\delta$). Les modules mesurés se stabilisent pour des épaisseurs moyennes supérieures à 3 mm, pour lesquelles un plateau semble atteint.

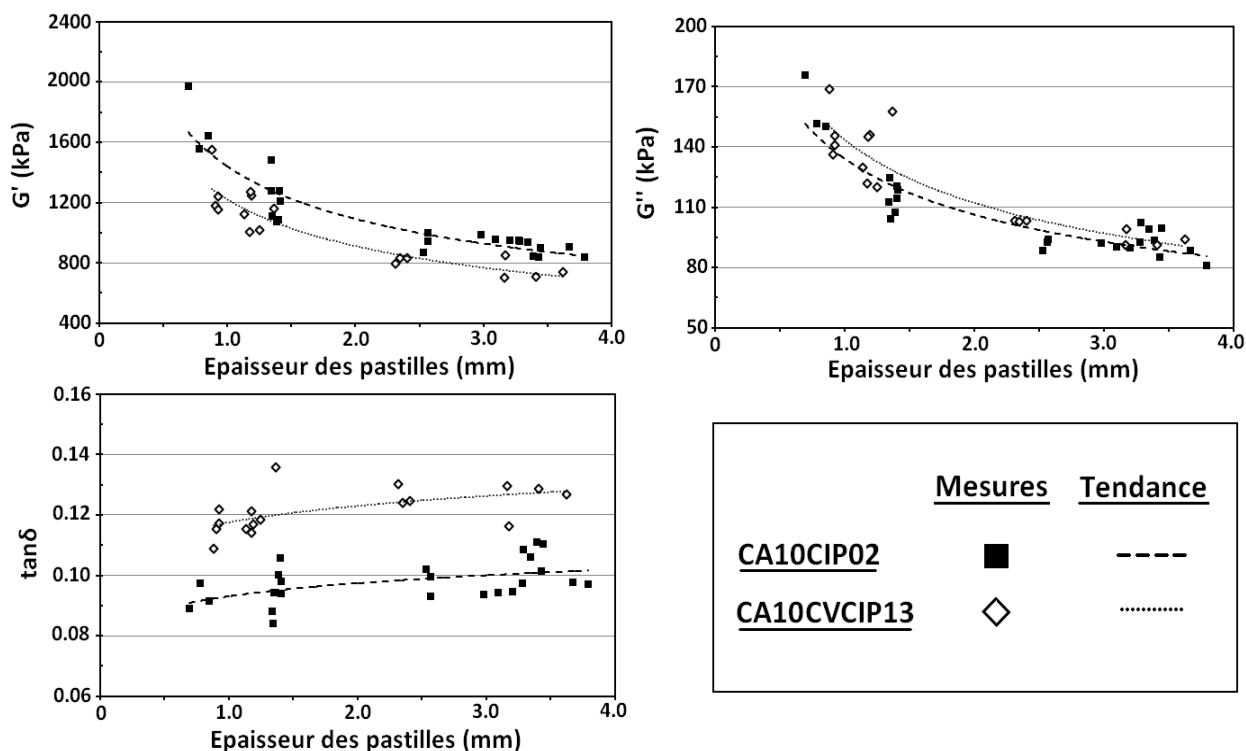


Figure 44. Evolution des propriétés rhéologiques mesurées à 1 Hz, à faible déformation ($\epsilon=2\%$) et à 25°C, en fonction de l'épaisseur moyenne des pastilles utilisées lors du collage des éprouvettes cylindriques, pour les gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) et CA10CVCIP13 (TSR10CV, GT1).

Les propriétés rhéologiques étant inhérentes au matériau étudié, cette diminution des modules avec l'épaisseur des pastilles ne devrait pas être observée. Cependant, les propriétés mesurées correspondent au système « colle-pastille-colle », et cette évolution des modules correspond à une influence de l'épaisseur de colle cyanoacrylate utilisée. Globalement, l'augmentation de l'épaisseur moyenne des pastilles entraîne une diminution de l'effet de la colle sur les propriétés rhéologiques mesurées. Au-delà de 3 mm d'épaisseur, l'influence de l'épaisseur de colle devient négligeable, et les propriétés rhéologiques mesurées sont uniquement attribuables aux pastilles de caoutchouc naturel. Par conséquent, pour la suite de ces travaux, une épaisseur moyenne minimale de 3 mm a été fixée pour les pastilles utilisées dans la conception des éprouvettes cylindriques. A partir de cette épaisseur, la colle utilisée n'a plus d'effet sur les propriétés mesurées, et les différents échantillons étudiés peuvent ainsi être comparés.

3.3.2. Présence d'air dans les éprouvettes cylindriques

Une étude a été menée en tomographie X sur la gomme CA10CIP21 (TSR10, GT1), afin de visualiser les bulles d'air présentes dans le matériau, à différentes étapes de la conception des éprouvettes. Une plaque laminée (Figure 45, (1)) ainsi qu'une pastille préparée par superposition de plaques (Figure 45, (2)) ont été caractérisées au centre de recherche de la société Hutchinson.

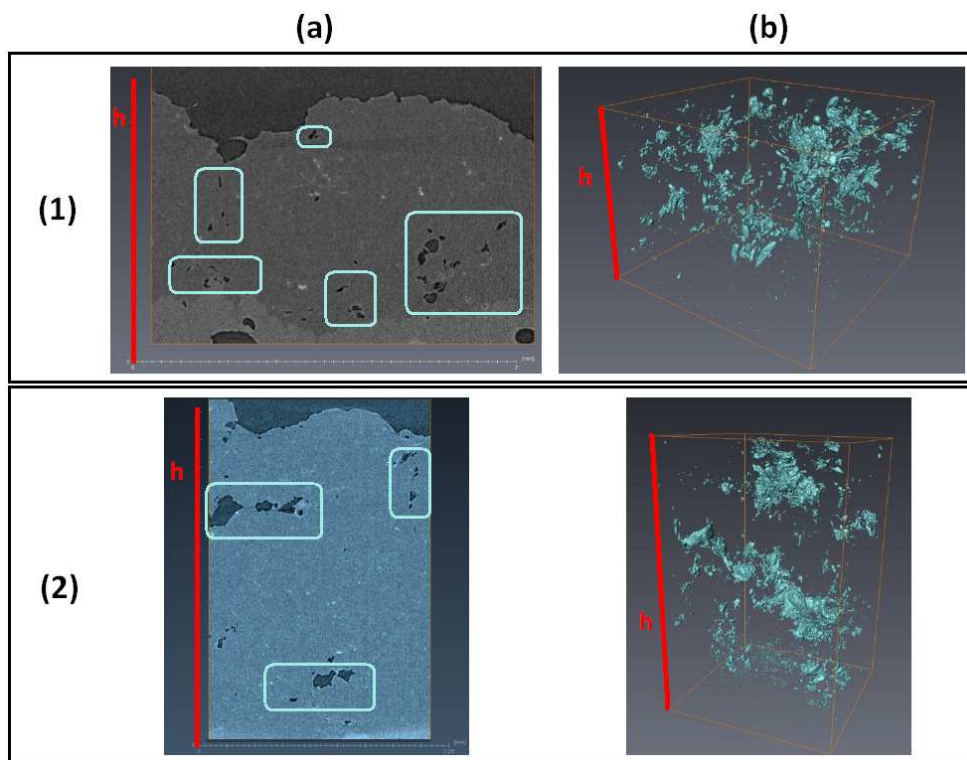


Figure 45. Coupes transversales (a) et reconstitutions en trois dimensions (b) d'une plaque laminée (1) et d'une pastille préparée à partir de plusieurs couches d'une même plaque (2), analysées par tomographie X. Seules les bulles d'air apparaissent sur les reconstitutions 3D. Elles sont encadrées sur les coupes transversales.

Les bulles d'air observées dans les pastilles (Figure 45, (2)) semblent concentrées au niveau des interfaces, entre les différentes couches. La superposition de plusieurs épaisseurs d'une même plaque pourrait donc entraîner le piégeage d'air lors de la fabrication des éprouvettes. Cependant, des bulles d'air sont également présentes dans la plaque préparée par laminage (Figure 45, (1)). Ces bulles d'air pourraient être piégées durant la phase de laminage, ou bien être initialement présentes dans la gomme brute.

La préparation d'une plaque homogène sans bulle d'air semble difficile, et n'a donc pas été recherchée dans ces travaux de thèse. Cependant, il pourrait être intéressant d'étudier l'influence de la quantité de bulles d'air sur les propriétés rhéologiques d'une même gomme, lors d'essais complémentaires. La présence d'air dans les éprouvettes cylindriques pourrait en effet impacter les propriétés rhéologiques enregistrées. Ces bulles d'air pourraient également se comporter comme des amorce de déchirement lors d'essais de fatigue.

3.4. Conclusions

L'utilisation d'éprouvettes cylindriques (Figure 38B) permet de mesurer les propriétés rhéologiques de gommes de caoutchouc naturel en double cisaillement, en analyse thermomécanique dynamique (DMTA). Cette géométrie a montré une très bonne répétabilité ($CV < 5\%$), en comparaison à des essais de traction-compression (Figure 38A)

pour lesquels la fabrication d'éprouvettes à partir de gomme non-vulcanisée, semble plus complexe. Les éprouvettes cylindriques sont fabriquées par collage de deux pastilles de caoutchouc naturel, entre des plots métalliques. Le module de collage prêté par la société Anvis permet d'améliorer la régularité de ces éprouvettes de mesure.

La phase de développement méthodologique a notamment permis d'optimiser la conception des plaques utilisées dans le collage des éprouvettes cylindriques. Le laminage dans des conditions peu sévères permet de limiter la dégradation des gommages, et d'obtenir des plaques fines, homogènes, avec un état de surface satisfaisant. Ces plaques sont ensuite superposées pour augmenter l'épaisseur de la prise d'essai. Une influence de l'épaisseur moyenne de caoutchouc a été mise en évidence sur les modules de cisaillement mesurés (Figure 44). En effet, en dessous d'une certaine épaisseur ($e < 3$ mm), les propriétés de la colle cyanoacrylate utilisée ne peuvent pas être négligées.

In fine, la méthode développée requiert une prise d'essai moyenne de 600 mg pour la fabrication d'une éprouvette de mesure. Ces faibles quantités de matières nécessaires permettent d'envisager une utilisation de cette méthode, sur les différentes fractions du caoutchouc naturel, après séparation du macrogel par centrifugation. Rappelons toutefois qu'il a été montré une influence de l'étape de mise en solution, sur les propriétés mesurées en double cisaillement. Ce résultat devra donc être pris en compte lors de la comparaison des propriétés des différentes fractions extraites avec celles de la gomme brute correspondante.

CHAPITRE 2

Influence de la mésostructure des gommess de caoutchouc naturel sur leurs propriétés rhéologiques

Dans ce chapitre, des corrélations entre la mésostructure des gommess de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT et leurs propriétés rhéologiques ont été recherchées. Deux des méthodes de caractérisation développées dans le chapitre précédent, ont été utilisées pour mener à bien cette étude. Dans un premier temps, la SEC-MALS en mode TBABr a permis de caractériser la mésostructure des échantillons, en apportant notamment des informations complémentaires sur la quantité et la structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) présents dans la fraction soluble. Les propriétés rhéologiques des échantillons ont également été mesurées en double cisaillement, selon la méthode développée en DMTA. In fine, il s'agit de définir clairement le rôle des chaînes macromoléculaires de poly(*cis*-1,4-isoprène) ainsi que le rôle de la phase gel, dans les propriétés rhéologiques mesurées (G' , G'' et $\tan\delta$).

Rappelons que plusieurs études ont déjà mis en évidence l'influence des masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des macromolécules de poly(*cis*-1,4-isoprène) sur la plasticité Wallace^[98] et la viscosité Mooney^[7] de gommess de caoutchouc naturel. De la même façon, les taux de macrogel^[72] et de Gel_{>1 μ} ^[96] sont supposés impacter les propriétés du matériau. Toutefois, dans ces différents travaux, les masses molaires moyennes mesurées par SEC ont probablement été surestimées du fait de la co-élution des microagrégats et des pelotes statistiques. De la même façon, le taux de Microgel_{<1 μ} non-accessible, n'a pas été pris en compte. L'utilisation de la SEC-MALS en mode TBABr doit ainsi permettre de confirmer, mais également d'affiner, les probables relations existantes entre mésostructure et propriétés rhéologiques.

1. Influence des conditions expérimentales sur la mésostructure

La caractérisation de la mésostructure d'un échantillon de caoutchouc naturel dépend fortement des conditions expérimentales utilisées. Allen et Bristow ont notamment mis en évidence une influence du solvant, de la température et du temps de mise en solution, sur les différents taux de gels mesurés^[75]. Ces différents paramètres ont donc été étudiés afin de définir des conditions optimales de caractérisation de la mésostructure des échantillons.

1.1. Cinétiques de mise en solution du caoutchouc naturel

Un échantillon de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriqué à partir du latex du clone GT1, a été placé à 1 g/L dans deux solvants différents : le tétrahydrofurane (THF) ou le cyclohexane, stabilisés avec 250 mg/L de BHT. Les solutions ainsi préparées ont été placées dans des bains-marie thermo-régulés à 30°C ou 60°C. Les cinétiques de mise en solution de la gomme ont été suivies durant 9 jours. Les taux de macrogel ont été mesurés par gravimétrie après centrifugation. Ce travail étant antérieur à la mise en place de la SEC-MALS en mode TBABr, les taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ et les paramètres structuraux des chaînes macromoléculaires en solution ont été mesurés par SEC-MALS sur des colonnes non-conditionnées (Colonnes A). Les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm ($\text{Microgel}_{<1\mu}$) n'ont donc pas été caractérisés. Le THF stabilisé étant utilisé comme phase mobile sur la SEC-MALS du laboratoire, les solutions préparées dans du cyclohexane ont nécessité des étapes supplémentaires d'évaporation du solvant et de remise en solution dans du THF stabilisé, avant d'être injectées en SEC-MALS.

La figure 46 présente l'évolution des différents taux de gels dans le temps, selon le solvant et la température de mise en solution sélectionnés. Une influence du temps de mise en solution peut d'abord être mise en évidence. Pour chacune des expériences, une diminution importante du taux de macrogel est observée durant les premiers jours de mise en solution. A l'exception de l'expérience C (Cyclohexane, 30°C, Figure 46C), cette diminution du taux de macrogel est accompagnée d'une augmentation du taux de microgel de tailles supérieures à 1 μm ($\text{Microgel}_{>1\mu}$). Une diminution du taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ est également observée, excepté pour l'expérience A (THF, 30°C, Figure 46A). Dans chacune des expériences réalisées, les taux de gels se stabilisent après 5 jours de mise en solution. Une influence de la température sur les taux de gels mesurés est également visible. Par exemple, dans le cas des solutions préparées dans du THF stabilisé, une augmentation de la température à 60°C (Figure 46B) entraîne une diminution des taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ et de macrogel, par rapport aux mises en solution réalisées à 30°C (Figure 46A). Enfin, cette expérience illustre également l'influence du solvant sur les taux de gels mesurés. En effet, pour une même température et un même temps de mise en solution, les taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ et de macrogel sont toujours plus importants dans le cas du cyclohexane, le THF étant un meilleur solvant du caoutchouc naturel.

Toutefois, l'influence de chacun de ces paramètres expérimentaux n'est pas visible sur les masses molaires moyennes des chaînes macromoléculaires présentes dans la fraction soluble (Figure 47). En effet, aucune évolution significative des masses molaires moyennes n'a été observée, dans le cas des solutions préparées dans du THF ou du cyclohexane.

Concernant d'abord les solutions préparées dans du THF à 30°C, il n'y a pas d'évolution du taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ (Figure 46A), et des masses molaires moyennes mesurées par SEC-MALS (Figure 47A). La dissolution d'une partie du macrogel mesuré à 1 jour conduit donc

uniquement à une augmentation du taux de $\text{Microgel}_{>1\mu}$. Cette fraction de macrogel serait donc constituée de microagrégats liés entre eux par des interactions faibles, pouvant être détruites dans le temps. Au contraire, une diminution du taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ (Figure 46C ; 46D) est observée pour les solutions préparées dans du cyclohexane. Ces évolutions pourraient traduire une augmentation du taux de microagrégats de tailles inférieures à $1\mu\text{m}$ ($\text{Microgel}_{<1\mu}$), qui n'a pas été quantifié dans cette expérience. Cependant, aucune augmentation du phénomène d'élution anormale n'est observée sur les chromatogrammes correspondants. Il s'agit donc plutôt d'une dissolution progressive de macromolécules de poly(*cis*-1,4-isoprène).

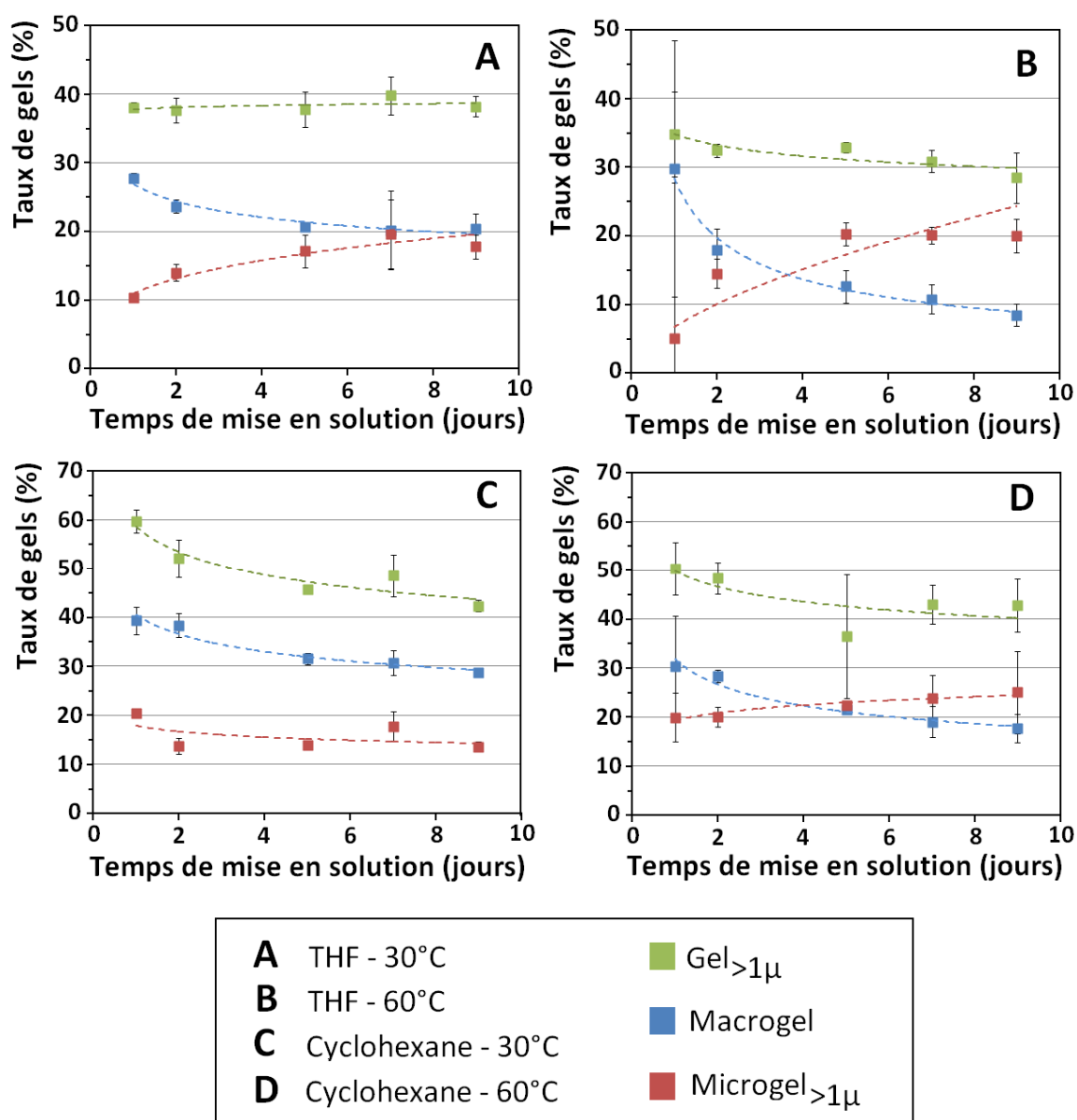


Figure 46. Influence du solvant et de la température sur les taux de gels mesurés après des temps de mise en solution différents, pour une gomme TSR10 fabriquée en RCI à partir de latex du clone GT1.

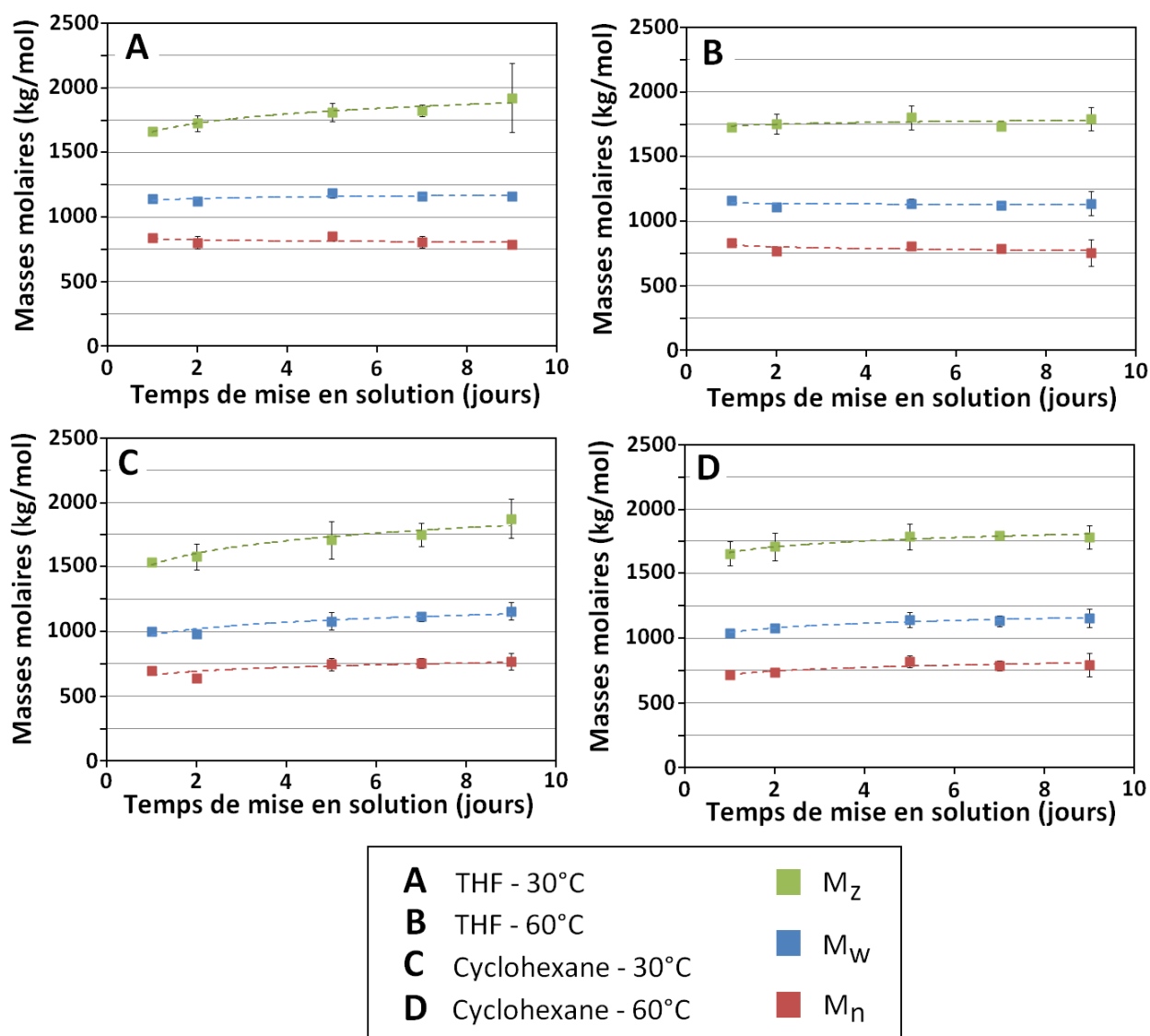


Figure 47. Influence du solvant et de la température de mise en solution sur les masses molaires moyennes des macromolécules en solution, après des temps de mise en solution différents (Gomme TSR10 de RCI, clone GT1).

Il est intéressant de noter que les masses molaires moyennes mesurées à 7 jours de mises en solution sont sensiblement égales pour chacune des conditions expérimentales (Tableau 18). Ce résultat suggère que l'augmentation de la température, tout comme l'étape d'évaporation du solvant pour les solutions préparées dans du cyclohexane, n'entraîne pas d'oxydation significative des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène). Les taux de gels mesurés pour les solutions préparées dans le THF à 30°C et 60°C après 7 jours de mises en solution sont donc directement comparables. L'augmentation de la température entraîne ainsi une diminution du taux de Gel_{>1μ} (30°C : 39,8% ; 60°C : 30,8%). Cette diminution du taux de Gel_{>1μ} illustre la présence, après 7 jours à 30°C, d'interactions physiques sensibles à la température [32, 73, 75]. Ainsi, la proportion de gel physique dans le Gel_{>1μ} de la gomme

étudiée, quantifié dans le THF à 30°C après 7 jours de mise en solution, serait d'au moins 22%.

Tableau 18. Mésostructure d'une gomme de grade TSR10 fabriquée à partir de latex du clone GT1, mesurée par SEC-MALS sur des colonnes non conditionnées, après 7 jours de mise en solution dans des conditions de solvant et de température différentes.

| Conditions | A | | | B | | | C | | | D | | |
|--|-------------|-----|---|-------------|-----|---|---------------------|-----|---|---------------------|-----|-----|
| Solvant Température | THF 30°C | | | THF 60°C | | | Cyclohexane 30°C | | | Cyclohexane 60°C | | |
| Gel_{>1μ} (% m/m) | 39,8 | 7% | b | 30,9 | 5% | c | 48,6 | 9% | a | 43,0 | 9% | a,b |
| Macrogel (% m/m) | 20,2 | 29% | b | 10,8 | 20% | b | 30,7 | 8% | a | 19,1 | 16% | b |
| Microgel_{>1μ} (% m/m) | 19,6 | 26% | a | 20,1 | 6% | a | 17,8 | 17% | a | 23,9 | 19% | a |
| M_n (kg/mol) | 808 | 6% | a | 791 | 1% | a | 755 | 5% | a | 790 | 5% | a |
| M_w (kg/mol) | 1162 | 3% | a | 1126 | 1% | a | 1115 | 3% | a | 1135 | 4% | a |
| M_z (kg/mol) | 1826 | 2% | a | 1734 | 1% | a | 1750 | 5% | a | 1795 | 1% | a |
| I | 1,44 | 3% | a | 1,42 | 1% | a | 1,48 | 2% | a | 1,44 | 1% | a |
| R_g (nm) | 83,8 | 3% | a | 82,5 | 3% | a | 82,4 | 3% | a | 83,7 | 1% | a |

- Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Au niveau de la dispersion des résultats (Tableau 18), les coefficients de variation obtenus sont très satisfaisants dans le cas des paramètres structuraux (Masses molaires moyennes, rayons de giration) des pelotes statistiques. Les taux de Gel_{>1μ}, calculés à partir des taux de recouvrement mesurés par SEC-MALS, sont également peu dispersés, avec des coefficients de variation de l'ordre de 5-7% pour les mises en solution réalisées dans du THF stabilisé, et de 9% pour celles réalisées dans du cyclohexane stabilisé. Une dispersion plus importante des taux de macrogel est cependant observée (8-29%), et entraîne également une variation importante des taux de Microgel_{>1μ} (6-26%). Ces coefficients de variation élevés sont liés aux faibles taux de macrogel présents dans la gomme de caoutchouc naturel étudiée. Une augmentation de la concentration des solutions préparées, doit permettre d'augmenter les quantités de macrogel isolées par centrifugation et de diminuer ainsi la dispersion des résultats.

Ainsi, cette étude a permis de mettre en évidence l'influence de certains paramètres expérimentaux sur la mésostructure des gommages de caoutchouc naturel. Bien que les masses molaires moyennes des pelotes statistiques ne soient pas impactées par ces conditions expérimentales (Figure 47), les taux de gels sont quant à eux fortement dépendants du solvant sélectionné, de la température et du temps de mise en solution, en accord avec les travaux d'Allen et Bristow ^[75]. Pour ces travaux de thèse, il semble donc important de définir des conditions expérimentales pour la caractérisation des gommages de caoutchouc naturel, et notamment pour la quantification des différents taux de gels. Le THF étant un meilleur solvant du poly(*cis*-1,4-isoprène) que le cyclohexane, ce premier solvant a été sélectionné pour l'ensemble des mises en solution réalisées pour la suite de ces travaux.

L'utilisation du THF permet également d'éviter les étapes d'évaporation et de changement de solvant, avant les injections en SEC-MALS. Pour chacune des expériences réalisées, une stabilisation des taux de gels a été observée à partir du cinquième jour de mise en solution. La durée optimale de dissolution pour la caractérisation des solutions de caoutchouc naturel a donc été fixée à 7 jours. Enfin, bien qu'aucune dégradation des chaînes macromoléculaires n'ait été observée pour les solutions préparées à 60°C avec la gomme sélectionnée, le choix s'est porté sur une régulation de la température du bain-marie à 30°C, pour limiter au maximum les risques d'oxydation. Ces paramètres expérimentaux ont été utilisés pour comparer les différentes gommes de caoutchouc naturel fabriquées dans le cadre du projet CANAOPT.

1.2. Influence de la concentration

L'influence de la concentration des solutions de caoutchouc naturel préparées dans les conditions expérimentales précédentes, a également été étudiée. Des solutions de concentrations comprises entre 1 et 5 g/L dans du THF stabilisé, ont été préparées à partir de la même gomme TSR10 (Clone GT1). La figure 48 présente l'évolution des taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ et de macrogel, mesurés après une mise en solution d'une semaine à 30°C. Les taux de macrogel ont été déterminés par gravimétrie, après centrifugation des solutions préparées. Après dilution à 1 g/L et filtration à 1 μm des fractions solubles, les taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ ont été déterminés par SEC-MALS sur des colonnes non conditionnées au TBABr (Colonnes A).

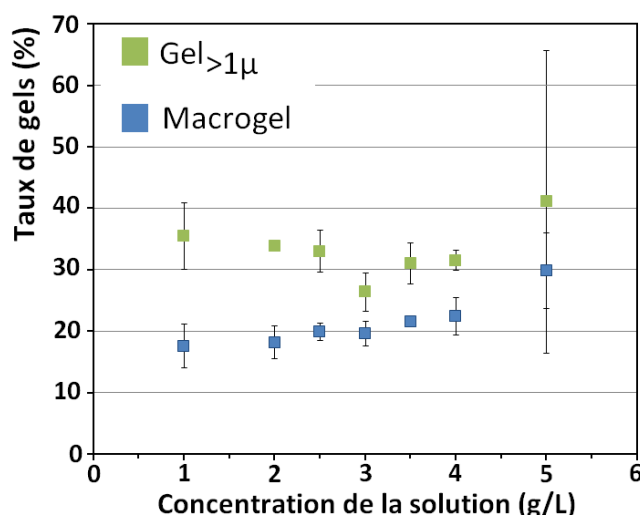


Figure 48. Influence de la concentration des solutions de caoutchouc naturel (Gomme TSR10 de RCI, clone GT1) dans du THF stabilisé, sur les taux de gels mesurés après 7 jours à 30°C.

La concentration de la solution n'a pas d'influence significative entre 1 et 4 g/L, sur les taux de macrogel et de $\text{Gel}_{>1\mu}$. Une augmentation des taux de gels mesurés est observée après 4 g/L, traduisant une dissolution moins importante du caoutchouc naturel aux concentrations élevées. Il est intéressant de noter que la dispersion des taux de macrogel mesurés, est progressivement réduite en augmentant la concentration jusqu'à 3,5 g/L. Ce

résultat a été pris en compte afin d'améliorer la méthode de quantification des taux de macrogel des gommés de caoutchouc naturel, dans les conditions expérimentales précédemment déterminées (THF, 30°C, 7 jours de mise en solution). En effet, une augmentation de la concentration des solutions préparées de 1 à 3 g/L, n'influe pas sur les valeurs moyennes mesurées, mais permet de récupérer des quantités de macrogel plus importantes lors de la centrifugation, et ainsi diminuer les imprécisions de mesure par gravimétrie.

2. Etude de la mésostructure de gommés de caoutchouc naturel

La mésostructure d'une sélection de 25 échantillons de caoutchouc naturel issus du projet CANAOPT a été étudiée, selon le protocole développé (Figure 49). Les échantillons sélectionnés pour cette étude sont listés dans le chapitre Matériel et méthodes.

Trois plaques P₀, utilisées dans la fabrication des éprouvettes de mesure des propriétés rhéologiques, ont d'abord été préparées pour chacune des gommés sélectionnées. L'étape de laminage ayant montré un effet sur la mésostructure de l'échantillon (Tableau 17), les mises en solution ont été directement réalisées à partir des plaques de caoutchouc naturel dans les conditions expérimentales définies précédemment (3 g/L dans du THF stabilisé, 7 jours de mise en solution à 30°C). Chaque plaque préparée a ainsi fait l'objet d'une mise en solution. Les taux de macrogel ont ensuite été quantifiés par gravimétrie, après centrifugation. Les fractions insolubles diluées 3 fois, ont été analysées par SEC-MALS en mode TBABr, après conditionnement (7 jours) et stabilisation (12 h) des colonnes de SEC. Pour prendre en compte les problèmes de répétabilité et de reproductibilité du conditionnement des colonnes, les 75 solutions préparées ont été analysées durant une même série d'injections (Figure 14).

Les différents taux de gels, ainsi que la structure des pelotes statistiques et des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) des 25 gommés sélectionnées, ont ainsi été étudiés. Pour chacun des échantillons, l'ensemble des résultats est fourni en annexes (Tableaux A-1 à A-3). Par souci de clarté dans ce chapitre, les échantillons ont été regroupés par grade et par clone avant d'être comparés. Les différences observées entre les différents grades et clones sont ainsi discutées.

Caractérisation des propriétés rhéologiques

Préparation des pastilles

Superposition de plaques P_0 pour épaisseur finale sur éprouvette : $e \geq 3 \text{ mm}$
Découpe à l'emporte-pièce $\varnothing = 12 \text{ mm}$

Collage des éprouvettes

Colle cyanoacrylate
Montage d'ANVIS

Mesure des propriétés rhéologiques

Sollicitation en double cisaillement
Balayage en fréquence (0,01 - 100 Hz) à faible déformation (2%, régime linéaire)

Caractérisation de la mésostructure

Mise en solution

t_0 t_7 jours
3 g/L dans THF stabilisé (0,25 g/L de BHT)
Obscurité - $T = 30^\circ\text{C}$
Agitation : 1 h/jour

Centrifugation

A t_7 jours
33 000 g - 1 h - 20°C
Fraction soluble
Macrogel

Macrogel :
Quantification par gravimétrie après séchage
Fraction soluble :
- Dilution à 1 g/L
- Filtration à $1 \mu\text{m}$

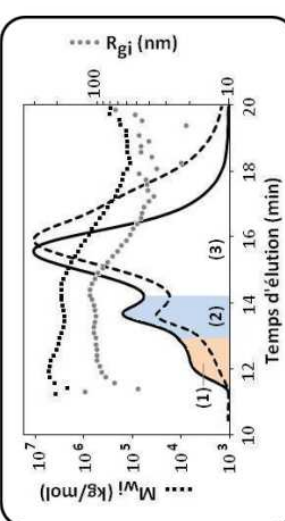
Conditionnement des colonnes de SEC

Phase mobile : TBABr à 3 g/L dans THF stabilisé
Circuit fermé
Une semaine

Installation et stabilisation des colonnes

A t_7 jours
RI
MALS
Phase mobile : THF stabilisé
Circuit ouvert
min. 12 h

Caractérisation de la fraction soluble par SEC-MALS en mode TBABr



Mise en forme des échantillons

Gomme brute
Homogénéisation :
Cylindres écartés (1,7 mm)
6 passes
Laminage :
Cylindres en contact
3 passes
Plaque P_0

Figure 49. Protocoles développés pour la caractérisation de la mésostructure (SEC-MALS en mode TBABr) et des propriétés rhéologiques (DMTA) d'échantillons de caoutchouc naturel mis en forme par laminage.

2.1. Comparaison des taux de gels

Le tableau 19 présente les différents taux de gels des gommes étudiées, regroupées par grade et par clone. Le gel total correspond à la somme des taux de Gel_{>1μ} et de Microgel_{<1μ} mesurés par SEC-MALS en mode TBABr. Une grande variation du taux de gel total peut être observée selon le grade et le clone considérés. Pour les échantillons étudiés, les taux moyens de gel total varient en effet entre 27,2% (TSR3CV, PB235) et 43,2% (TSR10, RRIM600). Les taux moyens de Gel_{>1μ} et de macrogel varient également de façon importante : de 16,4% (TSR10CV, PB235) à 36,5% (TSR10, RRIM600) pour le Gel_{>1μ}, et de 3,6% (TSR3CV, PB235) à 22,3% (TSR10, RRIM600) pour le macrogel. Les taux moyens de Microgel_{<1μ} mesurés sont compris entre 6,7% (TSR10, RRIM600) et 12,2% (TSR10CV, PB235).

Tableau 19. Taux de gels moyens mesurés par grade et par clone, pour les 25 gommes de caoutchouc naturel étudiées.

| Grade | Clone | Gel total (% m/m) | Gel _{>1μ} (% m/m) | Microgel _{<1μ} (% m/m) | Macrogel (% m/m) |
|---------|---------|-------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------|
| TSR10 | GT1 | 40,2 (4,6) a, b | 32,2 (4,6) a | 8,0 (1,0) c, d | 11,8 (7,1) a |
| TSR10 | PB235 | 32,3 (5,7) c, d | 23,6 (4,5) b, c | 8,6 (2,1) b, c, d | 5,3 (3,4) b |
| TSR10 | RRIM600 | 43,2 (1,3) a | 36,5 (1,0) a | 6,7 (0,4) d | 22,3 (1,0) c |
| TSR10CV | GT1 | 33,2 (3,0) c, d | 24,0 (3,0) b | 9,2 (1,6) b, c, d | 4,5 (0,7) b |
| TSR10CV | PB235 | 28,7 (3,6) c, d | 16,4 (4,3) d | 12,2 (1,0) a | 8,2 (5,4) a, b |
| TSR3CV | GT1 | 30,3 (3,9) c, d | 20,2 (4,4) b, c, d | 10,0 (1,0) a, b, c | 4,5 (0,5) b |
| TSR3CV | PB235 | 27,2 (3,9) d | 17,2 (3,4) c, d | 9,9 (2,9) a, b, c | 3,6 (1,5) b |
| TSR3CV | RRIM600 | 31,2 (3,8) c, d | 24,1 (3,8) b, c | 7,0 (0,8) d | 5,4 (0,6) b |
| TSR3CV | RRIT251 | 34,9 (1,6) b, c | 24,2 (1,4) b, c | 10,6 (0,4) a, b | 4,0 (0,4) b |

- Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

2.1.1. Influence du grade sur les taux de gels moyens

Les conditions de fabrication des gommes de caoutchouc naturel influent sur les taux de gels des échantillons (Tableau 19). Par exemple, pour les échantillons préparés à partir de latex du clone GT1, les gommes de grade TSR10 présentent des taux moyens de gel total, de Gel_{>1μ} et de macrogel significativement plus importants que les gommes de grade TSR10CV et TSR3CV. Les mêmes observations peuvent être réalisées avec les échantillons issus du clone RRIM600. Ces résultats mettent en avant l'influence du traitement au sulfate d'hydroxylamine (SHA) sur le vieillissement du matériau. Les échantillons non traités (TSR10) ont probablement subi un durcissement au stockage important, accompagné d'une augmentation des taux de gels [44, 51, 87].

Concernant les taux de Microgel_{<1μ}, une influence du grade est visible pour les échantillons préparés à partir de latex du clone PB235. Les gommes TSR10CV présentent des quantités de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1μ}) plus importantes que les gommes TSR10, les gommes TSR3CV présentant des valeurs intermédiaires.

2.1.2. Variation des taux de gels moyens avec l'origine clonale du latex

Une certaine variabilité clonale des taux de gels mesurés au sein d'un même grade a pu être observée (Tableau 19). Concernant les gommes de grade TSR10 par exemple, les échantillons issus de latex du clone PB235 présentent systématiquement des taux de gel total, de Gel_{>1μ} et de macrogel plus faibles que les échantillons préparés à partir de latex des clones GT1 et RRIM600. Les échantillons issus de latex du clone PB235 présentent également des taux inférieurs de gel total pour les gommes de grade TSR3CV, et de Gel_{>1μ} pour les gommes de grade TSR10CV. Il est également intéressant de noter que les gommes de grade TSR10 fabriquées à partir de latex du clone PB235 possèdent des taux de gels équivalents aux gommes TSR10CV et TSR3CV issues de latex des clones GT1 et RRIM600. Ces observations pourraient traduire un durcissement au stockage moins important des gommes TSR10 issues de latex du clone PB235.

Cette variabilité clonale est également visible au niveau des taux de Microgel_{<1μ} des échantillons. En effet, les gommes TSR3CV issues de latex du clone RRIM600 montrent des quantités de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm significativement plus faibles que les gommes TSR3CV préparées à partir de latex des clones GT1, PB235 et RRIT251. De la même façon, les gommes TSR10CV issues de latex de PB235 présentent des taux moyens de Microgel_{<1μ} plus importants que les gommes TSR10CV issues de latex du clone GT1.

2.2. Structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm

Tableau 20. Structure moyenne des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1μ}), par grade et par clone, pour les 25 gommes de caoutchouc naturel étudiées.

| Grade | Clone | M _n (kg/mol) | I | R _g (nm) | d _{app} (kg/m ³) |
|---------|---------|-------------------------|---------------|---------------------|---------------------------------------|
| TSR10 | GT1 | 1964 (133) a | 1,03 (0,02) a | 92,8 (2,8) a, b | 0,97 (0,09) a |
| TSR10 | PB235 | 2174 (130) a, b | 1,03 (0,00) a | 98,8 (2,4) c | 0,89 (0,08) a |
| TSR10 | RRIM600 | 2142 (151) a, b | 1,02 (0,00) a | 95,8 (3,0) a, b, c | 0,96 (0,08) a, b |
| TSR10CV | GT1 | 2173 (176) b | 1,04 (0,01) a | 91,1 (6,6) a | 1,15 (0,19) b |
| TSR10CV | PB235 | 2128 (127) a, b | 1,05 (0,02) a | 90,1 (6,1) a | 1,17 (0,20) b |
| TSR3CV | GT1 | 2333 (189) b | 1,03 (0,00) a | 101 (3,3) c | 0,90 (0,09) a |
| TSR3CV | PB235 | 2364 (170) b, c | 1,04 (0,01) a | 98,0 (2,3) b, c | 0,99 (0,08) a, b |
| TSR3CV | RRIM600 | 2087 (172) a, b | 1,04 (0,02) a | 99,3 (3,1) c | 0,84 (0,08) a |
| TSR3CV | RRIT251 | 2661 (234) c | 1,02 (0,00) a | 110 (3,0) d | 0,78 (0,03) a |

o Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.

o Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

L'utilisation de la SEC-MALS en mode TBABr a permis de caractériser les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm de l'ensemble des gommes étudiées (Tableau 20). Des différences importantes ont ainsi été observées au niveau de la structure de ces microagrégats. Leur masse molaire moyenne en nombre (M_n) varie entre 1964 kg/mol (TSR10, GT1) et 2661 kg/mol (TSR3CV, RRIT251). Leur rayon de giration varie entre 90,1 nm

(TSR10CV, PB235) et 110 nm (TSR3CV, RRIT251). Les indices de polydispersité de ces microagrégats sont identiques ($I = 1,02-1,05$) pour l'ensemble des gommés étudiées. Enfin, leur densité moléculaire apparente (d_{app}) varie entre 0,78 kg/m³ (TSR3CV, RRIT251) et 1,17 kg/m³ (TSR10CV, PB235).

2.2.1. Variation de la structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm en fonction du grade de l'échantillon

Une influence du grade des gommés sur la structure de leurs microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) peut être mise en évidence (Tableau 20). En effet, concernant les échantillons préparés à partir de latex du clone GT1, les gommés TSR10 présentent des microagrégats avec des masses molaires moyennes en nombre (M_n) significativement plus faibles que les gommés TSR10CV et TSR3CV. Cette tendance n'est toutefois pas retrouvée pour les échantillons issus de latex des clones PB235 et RRIM600. D'autre part, les gommés TSR10CV fabriquées à partir de latex des clones GT1 et PB235, présentent des microagrégats moins volumineux que les gommés TSR3CV issues des mêmes latex. Cette influence du grade sur la masse et la taille des microagrégats est également retrouvée au niveau de leur densité moléculaire apparente, les gommés TSR10CV présentant les microagrégats les plus denses.

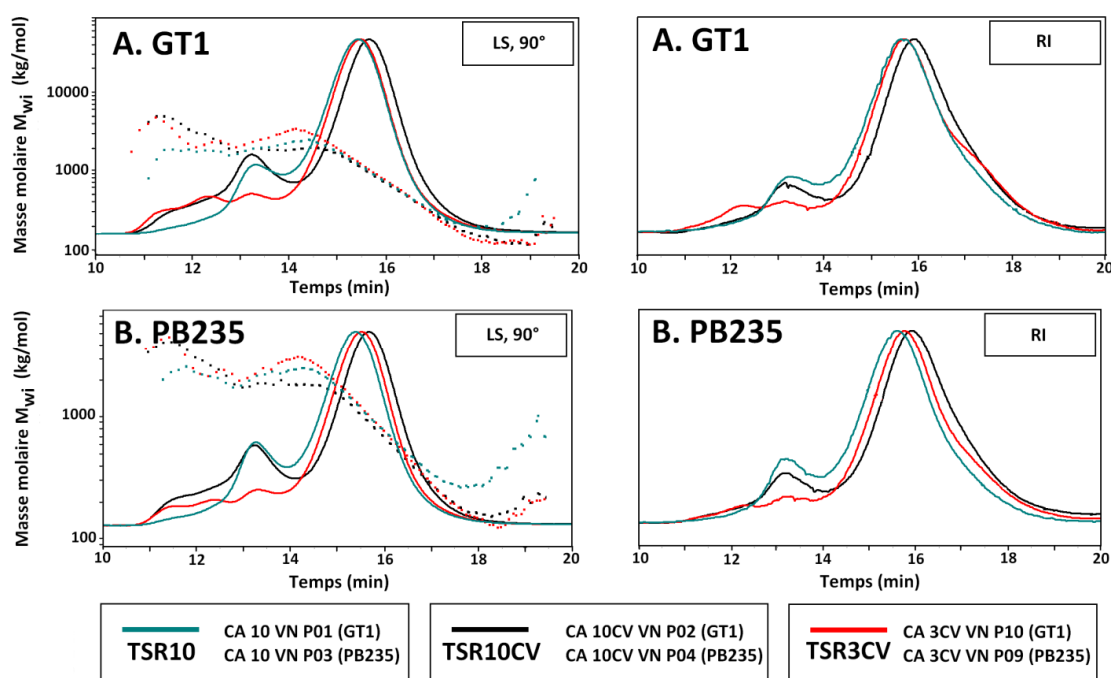


Figure 50. Profils d'élution en diffusion de la lumière à 90° (LS, gauche) et en réfractométrie (RI, droite), et évolution des masses molaires en poids ($M_{w,i}$), mesurés par SEC-MALS en mode TBABr, pour des échantillons de grades différents fabriqués à partir de latex des clones GT1 (A) et PB235 (B).

La figure 50 présente les chromatogrammes obtenus par SEC-MALS en mode TBABr pour des gommés de grades différents, issues du latex des clones GT1 (A) et PB235 (B). La comparaison des profils d'élution permet de souligner une influence du grade sur les

populations de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm , identifiées lors de la phase de développement de la méthode (Figure 33). Notamment, les deux populations décrites précédemment sont clairement visibles pour les échantillons de grade TSR10CV. Les gommés de grade TSR3CV présentent quant à elles trois populations : les deux populations précédentes sont retrouvées, et une troisième population intermédiaire est observée. Concernant les gommés de grade TSR10, les microagrégats les plus lourds ($t_{\text{élution}} < 12,7$ min) semblent avoir disparus, au profit de la dernière population ($t_{\text{élution}} = 12,7-14,1$ min). Les concentrations de microagrégats de la dernière population ($t_{\text{élution}} = 12,7-14,1$ min) sont plus faibles dans le cas des gommés TSR3CV. Ces microagrégats étant plus légers que ceux éluant entre 10,7 et 12,7 min, cette différence permet d'expliquer les masses molaires moyennes globalement plus élevées pour les microagrégats des gommés TSR3CV (Tableau 20).

2.2.2. Variation de la structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm avec l'origine clonale du latex

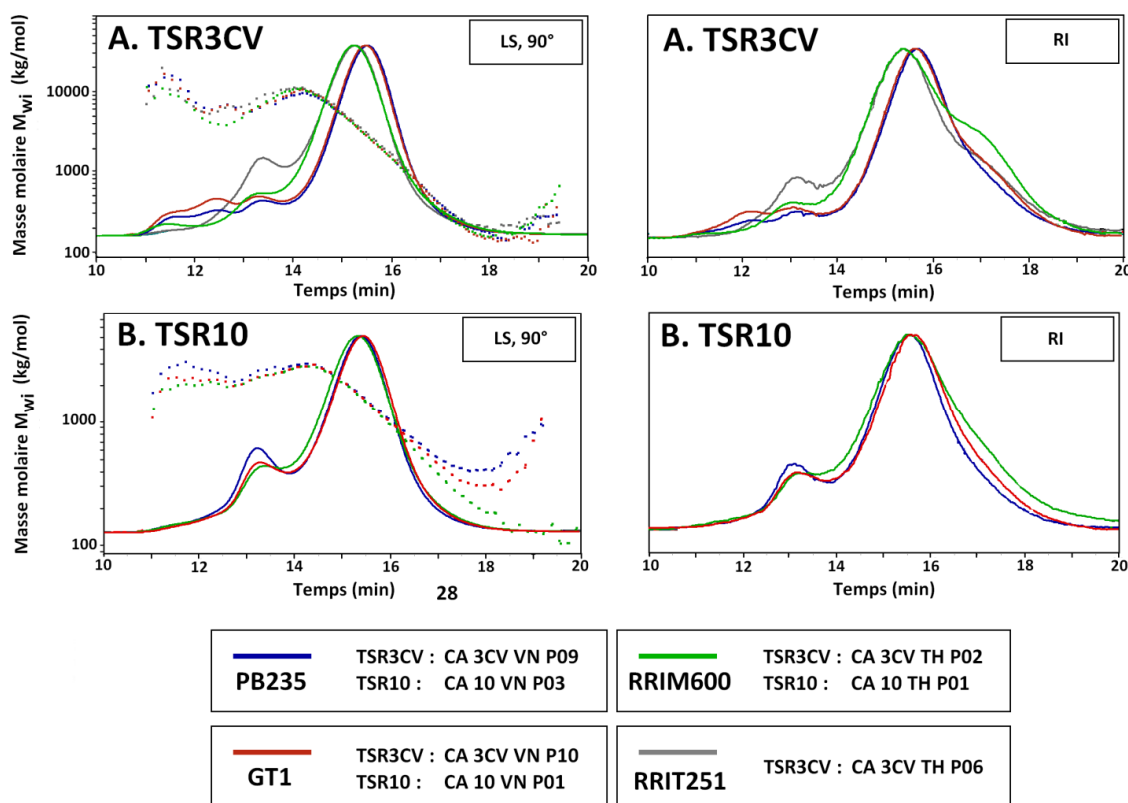


Figure 51. Profils d'élution en diffusion de la lumière à 90° (LS, gauche) et en réfractométrie (RI, droite), et évolution des masses molaires en poids ($M_{w,i}$), mesurés par SEC-MALS en mode TBABr, pour des échantillons de grades TSR3CV (A) et TSR10 (B) fabriqués à partir de latex de clones différents.

La structure des microagrégats constituant le $\text{Microgel}_{<1\mu}$ varie peu avec l'origine clonale du latex utilisé (Tableau 20). Concernant les gommés de grade TSR3CV, seuls les échantillons fabriqués à partir de latex du clone RRIT251 se distinguent : les microagrégats de ces échantillons sont en effet plus lourds et plus volumineux que ceux des autres gommés TSR3CV étudiées. Les gommés TSR3CV issues de latex du clone RRIT251 présentent

également des profils d'élution particuliers, avec des proportions plus importantes de microagrégats éluant entre 12,7 et 14,1 min (Figure 51A). Notons également que les microagrégats des gommés TSR10 fabriquées à partir de latex du clone PB235, sont plus volumineux ($R_g = 98,8$ nm) que ceux des gommés TSR10 issues de latex du clone GT1 ($R_g = 92,8$ nm).

2.3. Structure des pelotes statistiques

Le conditionnement des colonnes de SEC avec une solution de TBABr permet de caractériser plus justement les pelotes statistiques présentes dans la fraction soluble d'une solution de caoutchouc naturel, en limitant fortement le phénomène d'élution anormale. Les 25 gommés étudiées dans ce chapitre ont montré des différences importantes au niveau de la structure de leurs chaînes macromoléculaires en solution (Tableau A-3).

2.3.1. *Influence du grade sur la structure des pelotes statistiques*

Une influence du grade sur la structure des pelotes statistiques en solution peut être soulignée (Tableau 21). Concernant les gommés fabriquées à partir de latex du clone PB235 par exemple, les gommés TSR10 présentent des chaînes macromoléculaires avec des masses molaires moyennes et des rayons de giration supérieurs à celles des gommés TSR10CV. Cette tendance est également retrouvée pour les gommés fabriquées à partir de latex du clone GT1. Les masses molaires moyennes plus importantes mesurées pour les échantillons non stabilisés au SHA (TSR10), pourraient ainsi traduire une réticulation des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) intervenant lors du durcissement au stockage du matériau.

Tableau 21. Structure moyenne des pelotes statistiques, par grade et par clone, pour les 25 gommés de caoutchouc naturel étudiées.

| Grade | Clone | M_n (kg/mol) | M_w (kg/mol) | M_z (kg/mol) | I | R_g (nm) |
|---------|---------|----------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
| TSR10 | GT1 | 544 (57) b,c,d | 1038 (81) c,d | 1566 (128) c | 1,91 (0,02) b,c,d | 83,4 (3,5) a |
| TSR10 | PB235 | 728 (67) a | 1190 (58) a,b | 1667 (104) b,c | 1,64 (0,14) d | 85,8 (3,1) a,b,c |
| TSR10 | RRIM600 | 544 (36) b,c,d | 1039 (42) b,c,d,e | 1583 (65) c | 1,91 (0,06) b,c,d | 83,1 (1,0) a,c |
| TSR10CV | GT1 | 483 (85) c,d | 968 (152) d,e | 1509 (272) c,d | 2,02 (0,31) b,c | 79,8 (8,7) a,d |
| TSR10CV | PB235 | 521 (78) b,c,d | 871 (130) e | 1257 (201) d | 1,67 (0,14) c,d | 72,6 (7,3) d |
| TSR3CV | GT1 | 533 (94) b,c,d | 1131 (124) a,b,c | 1756 (165) a,b,c | 2,14 (0,20) b | 87,3 (5,5) a,b,c |
| TSR3CV | PB235 | 603 (83) a,b,c | 1058 (51) b,c,d | 1584 (75) c | 1,77 (0,17) b,c,d | 81,3 (1,5) a,d |
| TSR3CV | RRIM600 | 456 (103) d | 1172 (82) a,b,c | 1935 (97) a,b | 2,64 (0,41) a | 93,2 (1,7) b |
| TSR3CV | RRIT251 | 661 (98) a,b | 1314 (44) a | 1972 (80) a | 2,01 (0,24) b,c,d | 92,1 (1,3) b,c |

- Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

2.3.2. Variation de la structure des pelotes statistiques avec l'origine clonale du latex

Contrairement aux microagrégats constituant le $\text{Microgel}_{<1\mu}$, il a été observé une variabilité clonale importante de la structure des chaînes macromoléculaires. Notons par exemple, que les gommés TSR10 issues de latex du clone PB235 présentent des macromolécules avec des masses molaires moyennes plus importantes que les gommés TSR10 issues de latex des clones GT1 ou RRIM600. De la même façon, les gommés TSR3CV issues de latex des clones PB235 et RRIT251 possèdent des pelotes statistiques avec des masses molaires moyennes en nombre (M_n) plus importantes que les gommés TSR3CV issues de latex du clone RRIM600.

Les gommés TSR3CV fabriquées à partir de latex du clone RRIM600 présentent les indices de polydispersité moyens les plus importants ($I = 2,64$), traduisant une forte bimodalité. Cette observation peut également être réalisée sur les réfractogrammes des solutions correspondantes (Figure 51A), pour lesquelles un épaulement visible entre 16 et 18 min, traduit la présence d'une proportion importante de pelotes statistiques de faibles masses molaires.

2.4. Conclusions

Dans ces travaux, la SEC-MALS en mode TBABr a été utilisée pour caractériser la mésostructure d'un grand nombre d'échantillons de caoutchouc naturel issus du projet CANAOPT. Rappelons que cette méthode permet d'abord de séparer et de caractériser le $\text{Microgel}_{<1\mu}$. La caractérisation des pelotes statistiques est ensuite moins impactée par le phénomène d'élution anormale observé sur des colonnes non conditionnées.

La comparaison des 25 gommés étudiées a ainsi permis de mettre en évidence des différences au niveau des taux de gels des échantillons, de la structure des microagrégats de tailles inférieures à $1\ \mu\text{m}$, et de la structure des pelotes statistiques. Certaines de ces différences peuvent notamment être expliquées par le grade et l'origine clonale du latex utilisé.

3. Influence de la mésostructure des gommés de caoutchouc naturel sur leurs propriétés rhéologiques

La mésostructure des 25 gommés sélectionnées dans ce chapitre a ensuite été mise en relation avec les propriétés rhéologiques mesurées en double cisaillement. Dans cette partie, les différences de propriétés rhéologiques observées entre les différents échantillons étudiés sont d'abord discutées afin de mettre en avant l'influence du grade et de l'origine

clonale du latex. Des corrélations entre les propriétés du matériau et la structure des pelotes statistiques, ou le taux de gel total sont ensuite présentées.

3.1. Caractérisation des propriétés rhéologiques

Chacune des plaques P_0 préparées sur mélangeur à cylindres et analysées par SEC-MALS en mode TBABr, a également été utilisée pour fabriquer une éprouvette cylindrique afin d'en mesurer les propriétés rhéologiques en DMTA selon le protocole développé (Figure 49). Des balayages en fréquence (0,01-50 Hz) ont été réalisés en double cisaillement à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), et à 100°C . Trois mesures indépendantes ont ainsi été réalisées pour chacune des 25 gommes du projet CANAOPT sélectionnées.

3.1.1. *Evolution des propriétés rhéologiques*

La figure 52 présente l'évolution des propriétés rhéologiques avec la fréquence de sollicitation, pour trois gommes de grades différents, fabriquées à partir de latex du clone PB235. Pour chacun des trois échantillons, le module de conservation (G') est supérieur au module de perte (G'') traduisant la présence d'un plateau caoutchoutique ($\tan\delta < 1$) sur la gamme de fréquences étudiée. Une augmentation des modules G' est observée avec la fréquence de sollicitation. La gomme TSR10 présente une élasticité supérieure (G' supérieurs) aux gommes de grade TSR10CV et TSR3CV entre 0,01 et 50 Hz. Les modules de perte G'' augmentent dans un premier temps pour atteindre une valeur maximale (notée G''_{\max}) à une fréquence caractéristique de l'échantillon considéré. Au-delà de cette fréquence, une diminution des modules G'' est observée. A faible fréquence ($f < 0,1$ Hz), la gomme TSR10 présente des modules de perte supérieurs aux gommes TSR10CV et TSR3CV. A plus haute fréquence ($f > 1$ Hz), les modules G'' de la gomme TSR10 sont les plus faibles. La gomme TSR3CV présente des modules G'' intermédiaires sur la gamme de fréquences étudiées. Concernant l'évolution des facteurs d'amortissement ($\tan\delta$), le classement des échantillons est conservé entre 0,01 et 50 Hz : la gomme TSR10 présente des valeurs de $\tan\delta$ plus faibles que la gomme TSR10CV, la gomme TSR3CV présentant des facteurs d'amortissement intermédiaires.

Afin de faciliter la comparaison des 25 gommes sélectionnées pour cette étude, seules les propriétés rhéologiques mesurées aux fréquences de 0,01 Hz et de 22 Hz ont été considérées (Tableau annexe A-4). Ces deux fréquences permettent de prendre en compte l'évolution particulière du module de perte G'' avec la fréquence de sollicitation. La position du module de perte maximal G''_{\max} varie en effet entre 0,20 Hz (CA10CIP17 : TSR10, PB235) et 14,7 Hz (CA3CVTHP01 : TSR3CV, RRIM600), pour l'ensemble des 25 gommes (Tableau A-4). Comme précédemment, les échantillons étudiés ont été regroupés par grade et par clone dans ce chapitre, afin de faciliter la comparaison de leurs propriétés rhéologiques (Tableaux 22, 23).

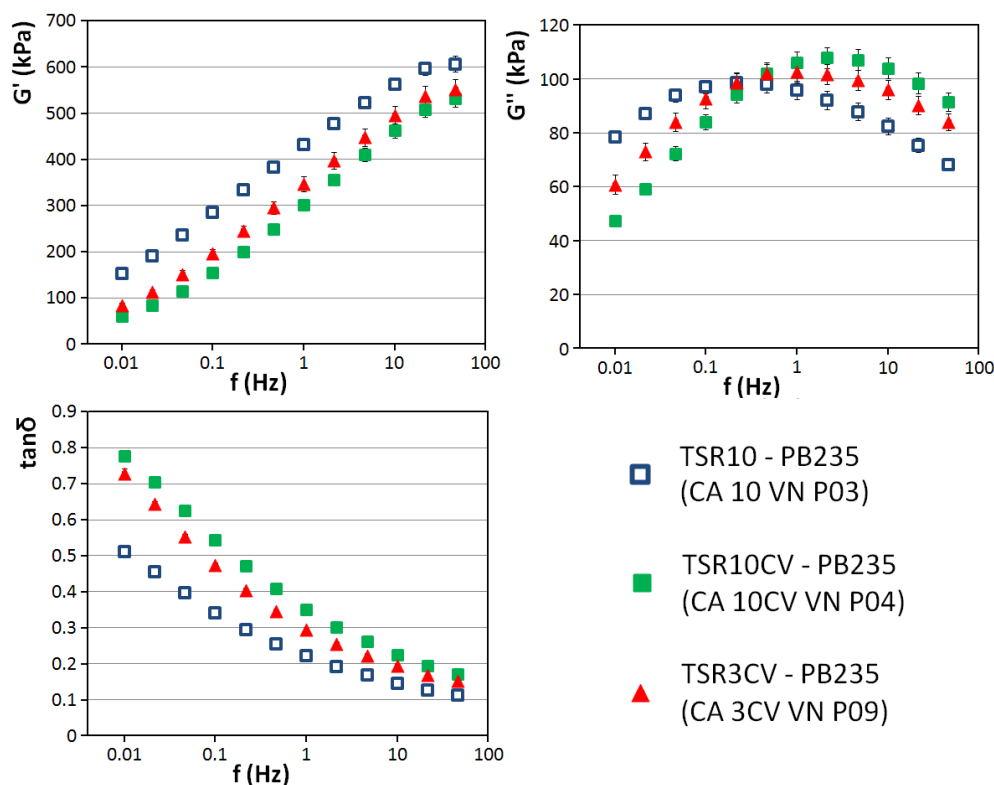


Figure 52. Propriétés rhéologiques mesurées à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) de trois gommes de grades différents, fabriquées à partir de latex du clone PB235.

3.1.2. Influence du grade sur les propriétés rhéologiques des gommes

Le grade des gommes de caoutchouc naturel a une influence sur les propriétés rhéologiques des échantillons laminés. Les échantillons de grade TSR10, fabriqués à partir de latex des clones GT1 et PB235, ont en effet des propriétés rhéologiques significativement différentes des échantillons de grade TSR10CV et TSR3CV, issus des mêmes clones. Pour ces deux clones, les gommes TSR10 présentent ainsi des modules de conservation (G') plus importants et des coefficients d'amortissement ($\tan\delta$) plus faibles que les gommes TSR10CV et TSR3CV, quelque soit la fréquence considérée (Tableau 22). Concernant les modules de perte (G'') des gommes TSR10 issues des clones GT1 et PB235, la valeur moyenne mesurée à 0,01 Hz est plus importante que celles obtenues pour les gommes TSR10CV et TSR3CV (Tableau 23). A 22 Hz, les gommes TSR10 présentent des modules G'' plus faibles que les gommes TSR10CV et TSR3CV. Ainsi, les gommes TSR10 fabriquées à partir du latex de ces deux clones sont plus élastiques et moins amortissantes sur la gamme de fréquences étudiées. Ces différences mises en évidence entre les gommes de grade TSR10 et les gommes stabilisées (grades CV) issues des latex des clones GT1 et PB235, sont en accord avec les courbes présentées sur la figure 52. Notons toutefois qu'aucune influence du grade n'a été observée pour les échantillons fabriqués à partir de latex du clone RRIM600.

La fréquence à laquelle est observée le module de perte maximal (G''_{\max}) dépend également du grade de l'échantillon considéré. En effet, pour les échantillons issus du latex

des clones GT1 et RRIM600, cette fréquence est plus faible pour les gommages de grade TSR10 (Tableau 23).

Tableau 22. Modules de conservation G' et coefficients d'amortissement $\tan\delta$ à 0,01 Hz et 22 Hz mesurés en double cisaillement à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), pour 25 gommages de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone.

| Grade | Clone | G' (kPa) à 0,01 Hz | G' (kPa) à 22 Hz | $\tan\delta$ à 0,01 Hz | $\tan\delta$ à 22 Hz |
|---------|---------|----------------------|--------------------|------------------------|----------------------|
| TSR10 | GT1 | 150 (27) a | 566 (42) a, b, c | 0,47 (0,04) d | 0,15 (0,02) d, e |
| TSR10 | PB235 | 150 (9) a | 599 (12) a | 0,54 (0,03) b, c | 0,13 (0,00) f |
| TSR10 | RRIM600 | 155 (19) a | 550 (30) b, c, d | 0,43 (0,02) d | 0,15 (0,01) c, d, e |
| TSR10CV | GT1 | 107 (27) b, c | 522 (28) d, e | 0,56 (0,07) b | 0,18 (0,02) a |
| TSR10CV | PB235 | 79 (20) c | 525 (22) c, d, e | 0,71 (0,07) a | 0,18 (0,02) a, b |
| TSR3CV | GT1 | 98 (13) b, c | 523 (14) d, e | 0,64 (0,05) a | 0,18 (0,01) a, b |
| TSR3CV | PB235 | 89 (10) b, c | 541 (17) b, c, d | 0,71 (0,03) a | 0,16 (0,01) b, c, d |
| TSR3CV | RRIM600 | 124 (8) a, b | 487 (12) e | 0,48 (0,01) c, d | 0,18 (0,01) a, b, c |
| TSR3CV | RRIT251 | 157 (7) a | 586 (22) a, b | 0,50 (0,02) b, c, d | 0,14 (0,01) e, f |

- Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Tableau 23. Valeurs des modules de perte G'' à 0,01 Hz et 22 Hz, des modules de perte maximaux (G''_{\max}) et des fréquences correspondantes, mesurées en double cisaillement (100°C, $\epsilon = 2\%$), pour 25 gommages de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone.

| Grade | Clone | G'' (kPa) à 0,01 Hz | G'' (kPa) à 22 Hz | G''_{\max} (kPa) | f (Hz) à G''_{\max} |
|---------|---------|-----------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|
| TSR10 | GT1 | 69 (8) b, c | 86 (5) c, d | 93 (3) d, e | 2,80 (2,08) c, d |
| TSR10 | PB235 | 80 (2) a | 76 (3) f | 100 (3) a, b, c | 0,24 (0,05) d |
| TSR10 | RRIM600 | 66 (5) c, d | 83 (2) d, e, f | 88 (2) e, f | 2,32 (0,81) c, d |
| TSR10CV | GT1 | 59 (8) d | 94 (6) a | 98 (7) a, b, c, d | 6,29 (4,02) b |
| TSR10CV | PB235 | 55 (9) d | 93 (7) a, b | 104 (5) a | 1,77 (0,67) c, d |
| TSR3CV | GT1 | 62 (4) c, d | 92 (4) a, b, c | 95 (5) b, c, d, e | 4,26 (1,44) b, c |
| TSR3CV | PB235 | 63 (5) c, d | 86 (5) b, c, d, e | 103 (3) a, b | 0,86 (0,27) c, d |
| TSR3CV | RRIM600 | 60 (2) c, d | 85 (2) b, c, d, e | 86 (1) f | 13,69 (1,26) a |
| TSR3CV | RRIT251 | 78 (3) a, b | 79 (3) e, f | 93 (5) c, d, e, f | 0,42 (0,16) d |

- Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

3.1.3. Evolution des propriétés rhéologiques selon l'origine clonale du latex

Les mesures réalisées sur cette sélection de caoutchoucs naturels permettent également de mettre en avant une variabilité clonale des propriétés rhéologiques des gommages étudiées. Notons par exemple des différences significatives entre les échantillons TSR10 fabriqués à partir de latex des clones GT1 et PB235 : les gommages TSR10 issues du clone GT1 présentent notamment des modules de perte (G'') et des coefficients d'amortissement ($\tan\delta$) inférieurs à basse fréquence, et supérieurs à plus haute fréquence. De la même façon, il paraît intéressant de noter le comportement particulier des gommages TSR3CV fabriquées à partir du latex du clone RRIT251. Ces gommages présentent notamment des modules de conservation plus importants, et des coefficients d'amortissement plus faibles, que les autres gommages TSR3CV. A basse fréquence, les modules de perte de ces gommages sont également très supérieurs.

3.2. Rôle des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) sur les propriétés rhéologiques des gommages

Le conditionnement des colonnes de SEC avec une solution de TBABr permet de limiter la co-élution des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) et des pelotes statistiques, présents dans la fraction soluble filtrée à 1 μm d'une gomme de caoutchouc naturel [74]. L'utilisation de cette technique permet donc de caractériser plus justement la structure des chaînes macromoléculaires en solution. Les masses molaires moyennes mesurées pour les pelotes statistiques sont notamment plus faibles que celles obtenues sur des colonnes non conditionnées. Des corrélations ont ainsi pu être mises en évidence entre les masses molaires moyennes des pelotes statistiques, et les propriétés rhéologiques des 25 échantillons étudiés. Les coefficients de détermination, ainsi que les valeurs-p (test de Fisher), obtenus pour les différentes régressions linéaires sont fournis en annexes (Tableau A-5).

La figure 53 présente l'évolution des modules de conservation à 0,01 Hz ($G'_{0,01\text{Hz}}$) et à 22 Hz ($G'_{22\text{Hz}}$), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques des différents échantillons laminés, regroupés par grade. Concernant d'abord les grades TSR10CV et TSR3CV, des corrélations très significatives ont été observées entre les modules $G'_{0,01\text{Hz}}$ des échantillons laminés et les masses molaires moyennes M_w des chaînes macromoléculaires (TSR10CV : $R^2 = 0,960$, valeur-p = 0,0006 ; TSR3CV : $R^2 = 0,841$, valeur-p = 0,0013). Les masses molaires moyennes en nombre (M_n) ne permettent pas de retrouver ces corrélations. Pour ces deux grades, les modules de conservation à plus haute fréquence ($G'_{22\text{Hz}}$) sont corrélés aux M_n des pelotes statistiques (TSR10CV : $R^2 = 0,915$, valeur-p = 0,0028 ; TSR3CV : $R^2 = 0,668$, valeur-p = 0,0132). Les corrélations obtenues entre les modules $G'_{22\text{Hz}}$ et les M_w des pelotes statistiques, sont en effet moins significatives. Ainsi, pour les grades TSR10CV et TSR3CV, l'élasticité d'une gomme est gouvernée par la M_w des chaînes macromoléculaires aux faibles fréquences, et par leur M_n aux fréquences plus

importantes. Les chaînes macromoléculaires avec des masses molaires élevées sont ainsi responsables des propriétés élastiques du matériau aux faibles fréquences, alors que les chaînes macromoléculaires de masses molaires plus faibles ont un rôle plus important aux fréquences élevées.

Concernant les gommés de grade TSR10, les corrélations précédentes ne sont pas retrouvées lorsque l'ensemble des échantillons est considéré (Figure 53). Pour ce grade, l'influence clonale est en effet très marquée : les gommés fabriqués à partir de latex du clone PB235 présentent des comportements différents des échantillons TSR10 issus des clones GT1 et RRIM600 (Figure 54). Les relations linéaires précédentes sont toutefois retrouvées pour les gommés issues des clones GT1 et RRIM600, pour lesquelles les modules de conservation à basse et haute fréquences sont respectivement corrélés aux masses molaires moyennes M_w et M_n des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène).

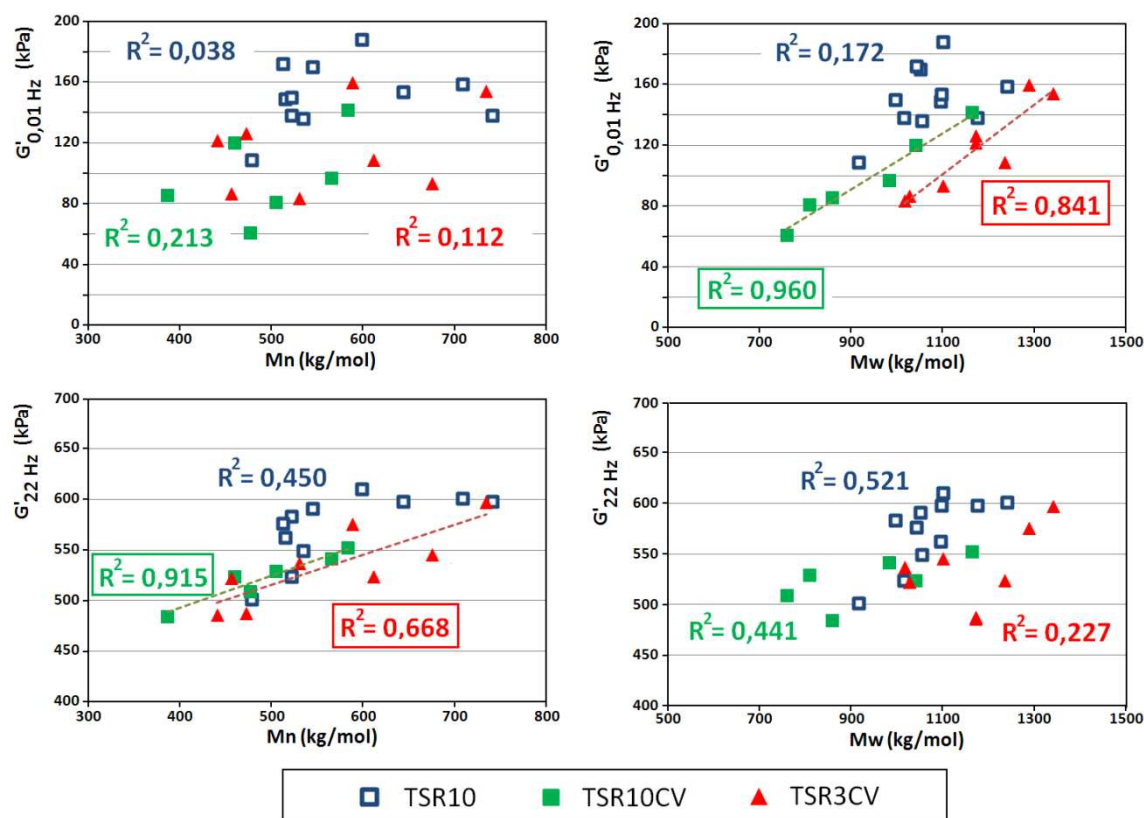


Figure 53. Evolution des modules de conservation G' à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesurés à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés.

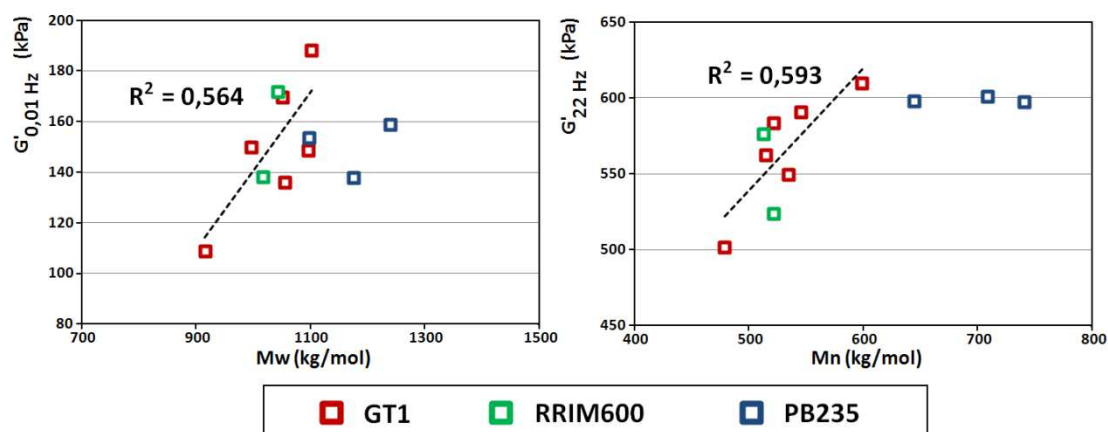


Figure 54. Evolution du module de conservation G' à 0,01 Hz et à 22 Hz avec respectivement les masses molaires moyennes en poids M_w (gauche) et en nombre M_n (droite) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour des gommes TSR10 issues du latex de trois clones différents. Les gommes issues de latex du clone PB235 ne sont pas considérées dans les modèles présentés.

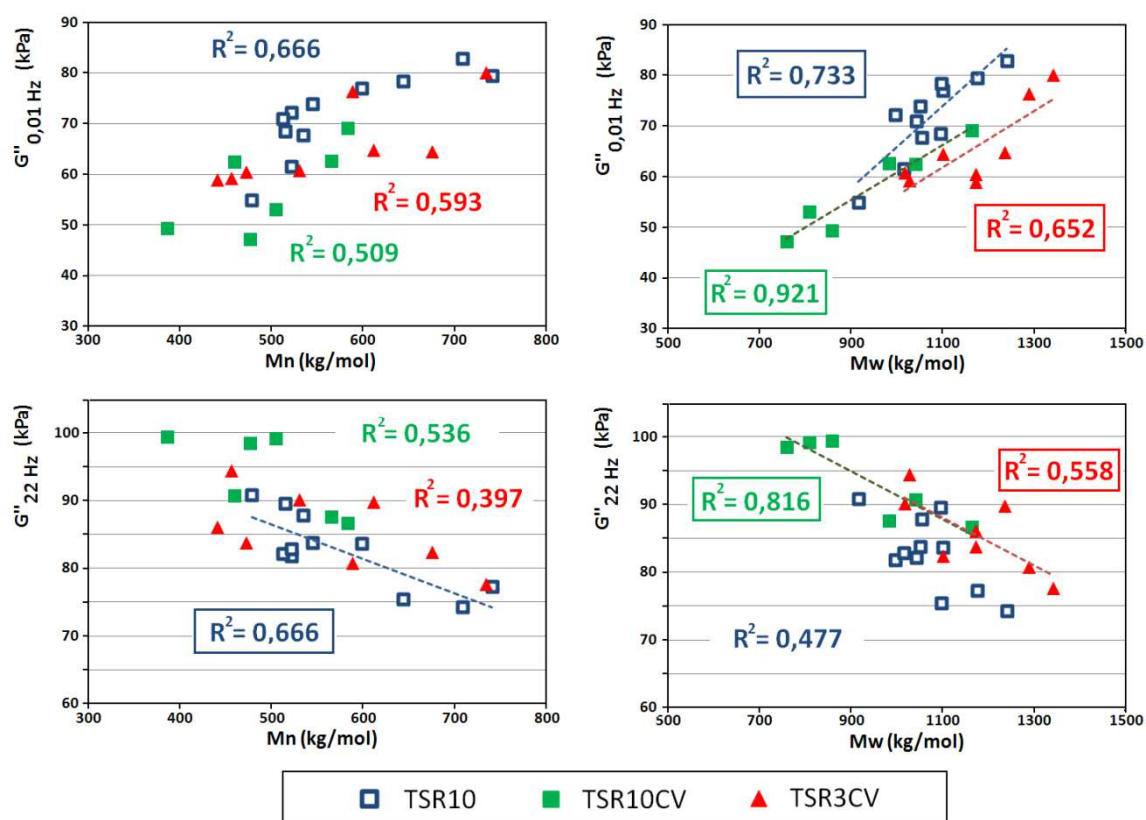


Figure 55. Evolution du module de perte G'' à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesuré à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés.

Les modules de perte (G'') sont également étroitement liés aux masses molaires moyennes des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) du matériau considéré (Figure 55). Des corrélations significatives ont ainsi été observées entre les modules $G''_{0,01\text{Hz}}$ et les M_w , pour les trois grades étudiés (TSR10 : $R^2 = 0,733$, valeur- $p = 0,0008$; TSR10CV : $R^2 = 0,921$, valeur- $p = 0,0024$; TSR3CV : $R^2 = 0,652$, valeur- $p = 0,0153$). A plus haute fréquence, les modules $G''_{22\text{Hz}}$ sont plutôt corrélés aux M_n pour les gommes TSR10, et aux M_w pour les gommes TSR10CV et TSR3CV.

Les M_n et M_w des pelotes statistiques étant corrélées aux modules de conservation (G') et de perte (G'') des échantillons laminés, l'existence de corrélations entre ces masses molaires moyennes et le coefficient d'amortissement $\tan\delta$ (G''/G') des échantillons n'est pas surprenante (Figure 56). Bien que le rôle des pelotes statistiques sur l'amortissement des échantillons soit peu marqué à 0,01 Hz, des corrélations significatives peuvent être soulignées à plus haute fréquence. La valeur de $\tan\delta_{22\text{Hz}}$ est ainsi gouvernée par la masse molaire moyenne en nombre des chaînes macromoléculaires.

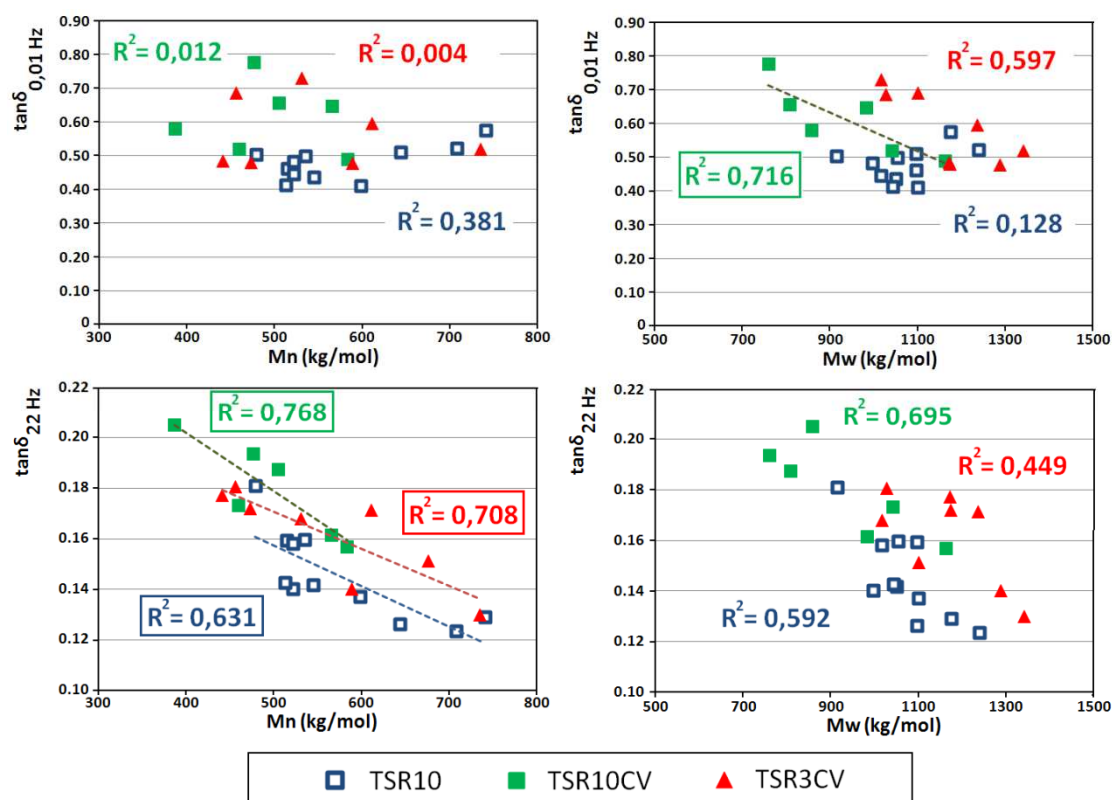


Figure 56. Evolution du coefficient d'amortissement ($\tan\delta$) à 0,01 Hz (haut) et à 22 Hz (bas) mesuré à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) des pelotes statistiques évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés.

Il est également intéressant de noter que la position du module de perte maximal (G''_{\max}) dépend de l'indice de polydispersité ($I = M_w / M_n$) des pelotes statistiques (Figure 57). En effet, pour chacun des grades étudiés, une augmentation de l'indice de polydispersité est accompagnée d'une augmentation de la fréquence à laquelle le module de perte maximal est atteint.

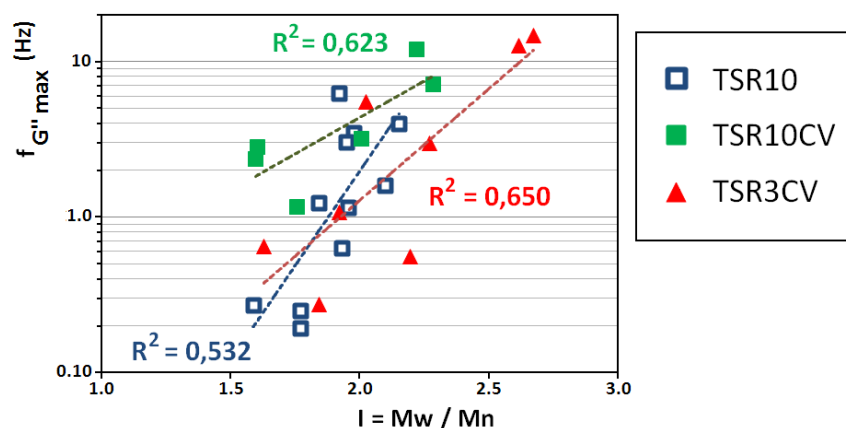


Figure 57. Evolution de la position du module de perte maximal ($f_{G''_{\max}}$) avec l'indice de polydispersité (I) des pelotes statistiques mesuré par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés.

Tableau 24. Influence de la structure des chaînes macromoléculaires de poly(*cis*-1,4-isoprène) sur les propriétés rhéologiques des gommes de caoutchouc naturel laminées.

| Propriétés rhéologiques | Paramètres structuraux des pelotes statistiques corrélés aux propriétés rhéologiques |
|------------------------------|--|
| $G'_{0,01\text{Hz}}$ | M_w |
| $G'_{22\text{Hz}}$ | M_n |
| $G''_{0,01\text{Hz}}$ | M_w |
| $G''_{22\text{Hz}}$ | M_n, M_w |
| $\tan\delta_{0,01\text{Hz}}$ | - |
| $\tan\delta_{22\text{Hz}}$ | M_n |
| Fréquence à G''_{\max} | $I = M_w / M_n$ |

Ainsi, les propriétés rhéologiques des échantillons de caoutchouc naturel laminés sont clairement gouvernées par la longueur des chaînes macromoléculaires présentes dans les matériaux étudiés (Tableau 24). Les macromolécules de masses molaires élevées sont responsables des propriétés élastiques (G') et visqueuses (G'') du matériau, à basse fréquence (0,01 Hz). Le rôle des macromolécules de masses molaires moins importantes est plus marqué aux plus hautes fréquences (22 Hz). En effet, des corrélations significatives ont été obtenues entre les propriétés rhéologiques des échantillons (G' , G'' et $\tan\delta$) et les masses molaires moyennes en nombre (M_n) des pelotes statistiques. L'indice de polydispersité jouerait également un rôle sur les propriétés rhéologiques du matériau. Ces différents résultats sont en accord avec les travaux de Kim *et al.* qui ont montré une influence des masses molaires moyennes M_n et M_w sur les viscosités Mooney de gommes de caoutchouc naturel [7].

Il paraît important de noter que des résultats équivalents ont été obtenus en intégrant simultanément les signaux correspondant aux microagrégats et aux pelotes statistiques sur les chromatogrammes obtenus par SEC-MALS en mode TBABr (Figure 58). Les corrélations précédentes sont ainsi retrouvées lorsque l'ensemble de la fraction soluble est considéré. Les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) n'auraient donc pas d'influence sur les propriétés rhéologiques mesurées. La prise en compte de ces microagrégats dans le calcul des masses molaires moyennes n'apporte pas un gain significatif aux corrélations précédentes.

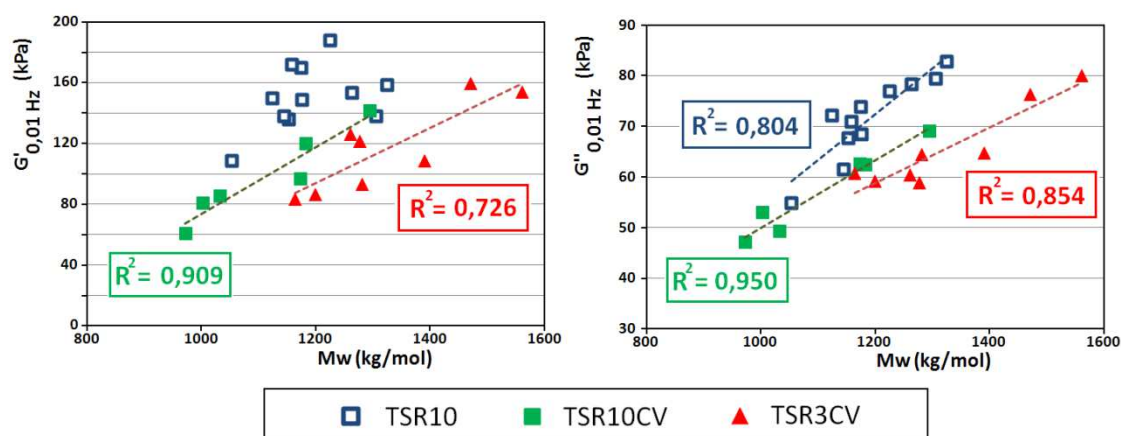


Figure 58. Evolution des modules de conservation (G') et de perte (G'') mesurés à 0,01 Hz (100°C, $\varepsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes en poids (M_w) de l'ensemble de la fraction soluble, évaluées par SEC-MALS en mode TBABr, pour les trois grades étudiés.

La méthode développée en DMTA pour des mesures de propriétés rhéologiques en double cisaillement fournit ainsi des résultats fiables, corrélés aux paramètres structuraux des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène). Les problèmes de reproductibilité de la SEC-MALS en mode TBABr ayant entraîné des limitations sur les quantités d'échantillons analysés, il serait intéressant de réitérer cette étude en SEC-MALS classique (sans conditionnement préalable des colonnes) avec un plus grand nombre d'échantillons, afin d'affiner les modèles mis en évidence.

3.3. Rôle du taux de gel total sur les propriétés rhéologiques des gommés

La présence de gel dans le caoutchouc naturel pourrait également avoir une influence sur les propriétés des gommés brutes ^[13, 72, 96]. Dans la suite de ces travaux de thèse, une relation entre les propriétés rhéologiques et le taux de gel total déterminé par SEC-MALS en mode TBABr a été recherchée. Rappelons que le taux de gel total mesuré avec cette technique correspond à la quantité de gel retenue lors de la filtration de la fraction soluble (Gel_{>1 μ}) additionnée à la quantité de microagrégats (Microgel_{<1 μ}) injectée en SEC-MALS.

3.3.1. Représentation Cole-Cole

Les propriétés rhéologiques mesurées en double cisaillement à partir de la méthode développée (balayage en fréquences, $\epsilon = 2\%$) ont été analysées selon la représentation Cole-Cole (Figure 59) ^[113]. Cette représentation consiste à tracer l'évolution du module de perte (G'') en fonction du module de conservation (G'). Ceci permet de déterminer graphiquement certains paramètres décrits par le modèle proposé par Perez ^[111], qui donne une expression du module de cisaillement complexe (G^* , Eq. 9). Dans ce modèle, les paramètres K , K' et Q sont liés à la structure du polymère. Les valeurs de K et de K' sont respectivement gouvernées par la présence de défauts structuraux à l'échelle du monomère, et à l'échelle du polymère. La valeur du paramètre K' reflète notamment la densité de nœuds de réticulation au sein du matériau étudié. Le paramètre Q est lié à la concentration totale en défauts structuraux. Dans le cas du caoutchouc naturel, la présence de quantités plus ou moins importantes de gel total dans les gommés sélectionnées pour cette étude, pourrait ainsi impacter certains de ces paramètres.

$$G^* = G' + iG'' = G_C + \frac{G_L - G_C}{1 + Q(i\omega\tau_{mr})^{-K'} + (i\omega\tau_{mr})^{-K}} \quad (\text{Eq. 9})$$

- G^* : Module de cisaillement complexe ;
 G' et G'' : Module de conservation et de perte ;
 G_L et G_C : Module avant et après relaxation ;
 τ_{mr} : Temps de relaxation moléculaire ;
 K, K' et Q : Paramètres liés à la structure du polymère.

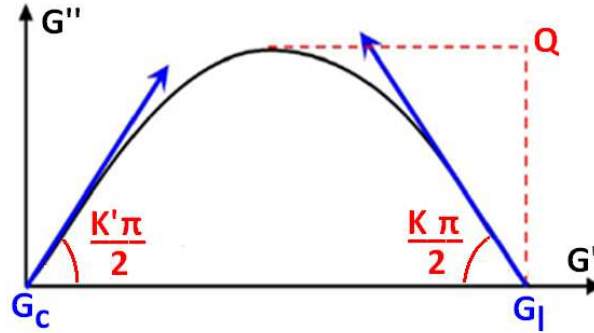


Figure 59. Représentation Cole-Cole ($G''=f(G')$) permettant de déterminer graphiquement certains paramètres décrits par le modèle de Perez ^[113].

Les paramètres K , K' et Q peuvent être calculés graphiquement à partir de la représentation Cole-Cole des propriétés rhéologiques du matériau (Figure 59). Ainsi, la valeur de Q correspond au module de perte maximal (G''_{\max}) étudié précédemment. Les valeurs de K' et K sont proportionnelles aux angles mesurés entre la courbe Cole-Cole ($G''=f(G')$) et l'axe des modules de conservation, aux faibles et aux hautes fréquences, respectivement.

3.3.2. Utilisation de la représentation Cole-Cole

Cette étude visant à établir un lien entre certains des paramètres du modèle de Perez et les taux de gels des gommes de caoutchouc naturel, deux échantillons présentant des taux de gel total très différents ont d'abord été sélectionnés (CA3CVVNP09 : 24,3% m/m ; CA10THP03 : 42,9% m/m ; Tableau annexe A-1). Pour ces deux échantillons, les propriétés rhéologiques ont été mesurées en double cisaillement à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$), lors de balayages en fréquence sur des gammes différentes : 0,001-100 Hz ou 0,01-50 Hz. Les représentations Cole-Cole des propriétés rhéologiques mesurées pour ces deux gommes sont illustrées par la figure 60.

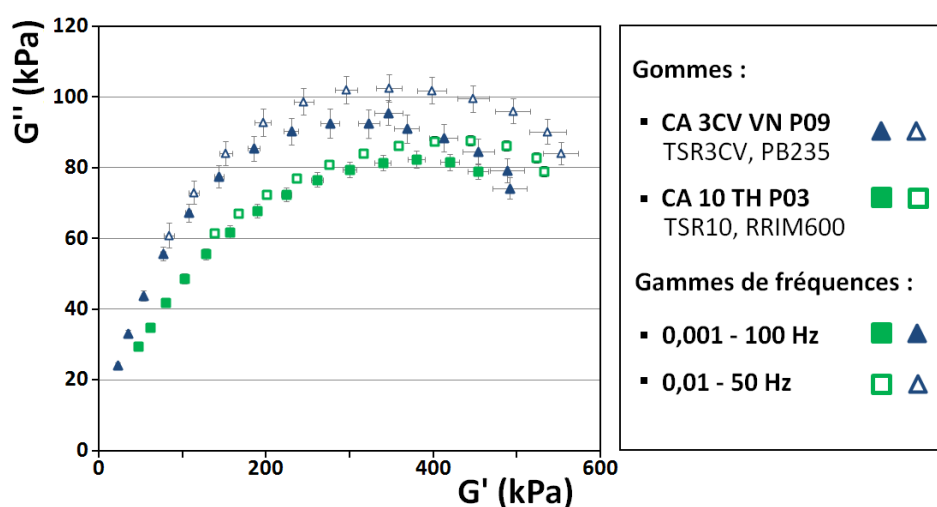


Figure 60. Représentation Cole-Cole des propriétés rhéologiques mesurées lors de balayages en fréquences réalisés en double cisaillement à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$), pour deux gommes de caoutchouc naturel laminées présentant des taux de gel total très différents.

Pour chacun des deux échantillons, les mesures réalisées aux faibles fréquences sont équivalentes sur les deux gammes de fréquences étudiées, traduisant une bonne reproductibilité des mesures (Figure 60). Aux plus hautes fréquences cependant, des différences importantes sont observées entre les mesures réalisées avec les deux gammes de fréquences. En effet, pour un même module de conservation (G'), les mesures réalisées sur la gamme 0,001-100 Hz présentent un module de perte (G'') plus faible que celles réalisées sur la gamme 0,01-50 Hz. Ces résultats pourraient traduire une dégradation thermique du matériau durant les mesures réalisées avec la gamme 0,001-100 Hz, nécessitant un temps d'analyse plus important.

Des différences peuvent également être observées entre les courbes Cole-Cole des deux échantillons étudiés (Figure 60). La gomme CA3CVVNP09 présente notamment des valeurs de G''_{\max} (ou Q) plus importantes que la gomme CA10THP03, sur les deux gammes de fréquences. Aux faibles fréquences et pour un même module de conservation G' , la gomme CA3CVVNP09 présente également un module de perte G'' supérieur, traduisant une valeur de K' plus importante. Notons que seuls les paramètres Q et K' peuvent être

déterminés à partir des courbes expérimentales. En effet, les conditions de mesure ne permettent pas d'obtenir suffisamment de points aux fréquences élevées pour autoriser un calcul du paramètre K. Le paramètre Q ayant déjà été étudié précédemment, à travers la fréquence à laquelle le module de perte maximal (G''_{\max}) est mesuré, l'intérêt a été porté sur le paramètre K'.

Pour chacun des deux échantillons, la valeur de K' a donc été déterminée graphiquement à partir des points expérimentaux obtenus avec les deux gammes de fréquences étudiées. Pour cela, les courbes Cole-Cole expérimentales ont d'abord été modélisées par des polynômes de degré 4. La valeur de K' a ensuite été calculée à partir de la tangente à la courbe modélisée, lorsque le module de conservation G' tend vers la valeur de 0 (Eq. 10).

$$K' = \frac{2}{\pi} \times \left[\arctan \left(\frac{dG''}{dG'} \right)_{G' \rightarrow 0} \right] \quad (\text{Eq. 10})$$

Les valeurs de K' calculées pour les quatre courbes expérimentales sont présentées dans le tableau 25. Pour chacune des deux gommes, les valeurs déterminées sont équivalentes pour les deux gammes de fréquences étudiées. En effet, les différences observées entre les deux mesures sont seulement de 1% pour la gomme CA3CVNP09 et de 3% pour la gomme CA10THP03. Ainsi, les mesures réalisées lors de balayages en fréquence entre 0,01 et 50 Hz conduisent aux mêmes résultats que des mesures réalisées entre 0,001 Hz et 100 Hz. La gamme de fréquences réduites (0,01-50 Hz), nécessitant des temps d'analyse plus courts, peut ainsi être utilisée pour déterminer le paramètre K' des gommes de caoutchouc naturel. Ces résultats permettent également de valider la méthode d'extrapolation des courbes Cole-Cole expérimentales, par un polynôme de degré 4 aux faibles fréquences, pour les mesures réalisées entre 0,01 et 50 Hz.

Tableau 25. Influence de la gamme de fréquences étudiées lors de mesures des propriétés rhéologiques, sur la valeur du paramètre K' calculée graphiquement à partir des courbes Cole-Cole.

| Gomme | Gel total (% m/m) | Valeurs de K' | |
|---------------|----------------------|--------------------|------------------|
| | | f = 0,001 – 100 Hz | f = 0,01 – 50 Hz |
| CA 3CV VN P09 | 24,3 (0,5) | 0,491 (0,003) | 0,497 (0,003) |
| CA 10 TH P03 | 42,9 (1,7) | 0,392 (0,002) | 0,404 (0,003) |

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types mesurés pour trois répétitions indépendantes.

3.3.3. Influence du taux de gel sur le paramètre K'

Les paramètres K' des 25 gommes de caoutchouc naturel sélectionnées dans ce chapitre, ont ensuite été déterminés à partir des propriétés rhéologiques mesurées en double cisaillement lors de balayages en fréquence réalisés entre 0,01 et 50 Hz. Les valeurs

calculées (Tableau annexe A-6) varient entre 0,404 pour les gommés présentant les taux de gel total les plus importants (CA10THP03, 42,9% m/m), et 0,497 pour celles avec des taux de gel les plus faibles (CA3CVVNP09, 24,3% m/m). Une corrélation significative ($R^2 = 0,730$, valeur-p < 0,0001 selon le test de Fisher) a ainsi été obtenue entre le paramètre K' et la quantité de gel total mesurée par SEC-MALS en mode TBABr (Figure 61A). La valeur de K' diminue ainsi linéairement lorsque le taux de gel total de l'échantillon augmente. Il est intéressant de noter qu'une autre corrélation significative ($R^2 = 0,785$, valeur-p < 0,0001 selon le test de Fisher) a également été obtenue entre K' et le taux de $Gel_{>1\mu}$ (Figure 61B). Ce résultat s'explique notamment par les très faibles variations observées au niveau des quantités de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel $_{<1\mu}$ = 6,1-12,7% m/m, Tableau A-1), qui influent finalement très peu sur les taux de gel total mesurés. Le taux de macrogel des gommés n'est quant à lui pas corrélé avec la valeur du paramètre K' .

Notons que le paramètre K' permet également de différencier les échantillons selon leur grade, et le clone dont ils sont issus (Tableau 26). En effet, quelque soit le clone, les gommés de grade TSR10 présentent les valeurs de K' les plus faibles alors que les gommés de grade TSR3CV présentent les valeurs de K' les plus élevées. De la même façon, les échantillons fabriqués à partir de latex du clone PB235 montrent toujours les valeurs de K' les plus élevées au sein d'un même grade, à l'inverse des échantillons issus du clone RRIM600 pour lesquels les valeurs les plus faibles ont été calculées. Ces observations sont en accord avec les taux de gel total et de $Gel_{>1\mu}$ mesurés précédemment (Tableau 19).

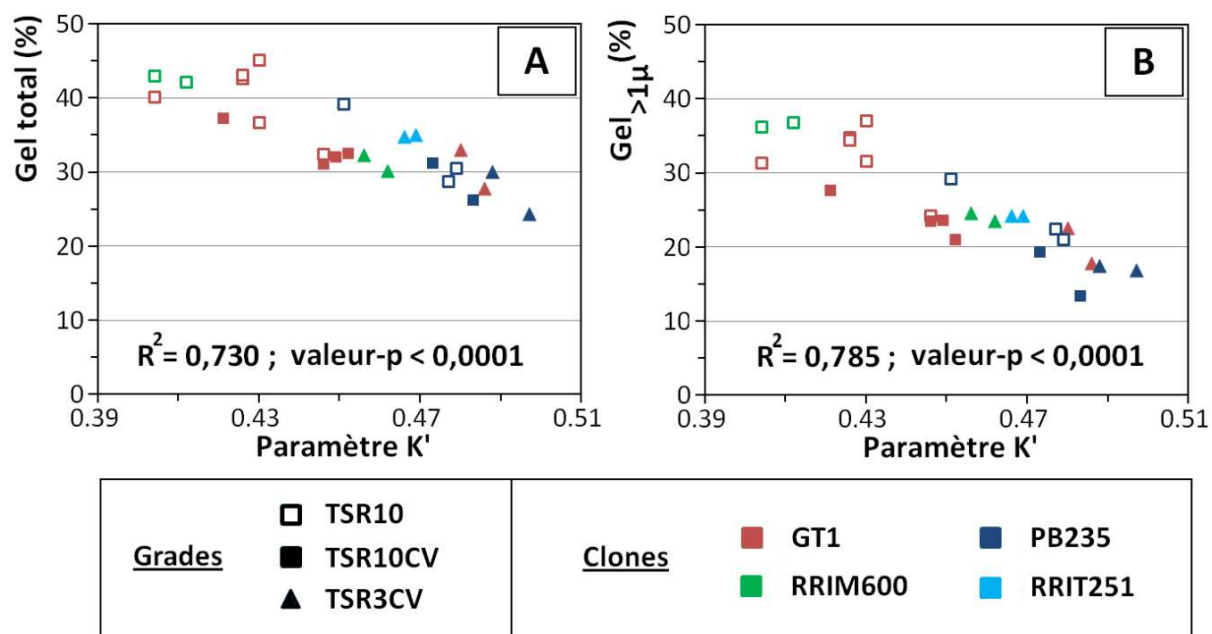


Figure 61. Corrélations entre les taux de gel total (A) et de $Gel_{>1\mu}$ (B) déterminés par SEC-MALS en mode TBABr, et le paramètre K' calculé à partir des courbes Cole-Cole, pour une sélection 25 gommés laminées.

Tableau 26. Valeurs du paramètre K' , pour 25 gommes de caoutchouc naturel regroupées par grade et par clone.

| Grade | Clone | Valeurs de K' | | |
|---------|---------|-----------------|---------|---------|
| TSR10 | GT1 | 0,427 | (0,013) | a |
| TSR10 | PB235 | 0,469 | (0,014) | b, f |
| TSR10 | RRIM600 | 0,408 | (0,007) | c |
| TSR10CV | GT1 | 0,442 | (0,013) | d |
| TSR10CV | PB235 | 0,478 | (0,006) | b, e, f |
| TSR3CV | GT1 | 0,483 | (0,004) | b, e |
| TSR3CV | PB235 | 0,492 | (0,005) | e |
| TSR3CV | RRIM600 | 0,459 | (0,006) | f |
| TSR3CV | RRIT251 | 0,467 | (0,003) | b, f |

- Les écarts-types sont présentés entre parenthèses.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Ainsi, ces travaux ont permis de mettre clairement en évidence l'influence du taux de gel sur les propriétés rhéologiques des gommes laminées. Les taux de gel total et de $\text{Gel}_{>1\mu}$, mesurés par SEC-MALS en mode TBABr, influent directement sur la valeur du paramètre K' décrit dans la littérature (Figure 61). Rappelons que la corrélation observée entre le paramètre K' et le taux de $\text{Gel}_{>1\mu}$ peut être expliquée par les faibles proportions de $\text{Microgel}_{<1\mu}$ mesurées par SEC-MALS en mode TBABr. Il paraît toutefois important de ne pas négliger les microagrégats de tailles inférieures à $1\mu\text{m}$ ($\text{Microgel}_{<1\mu}$), lorsqu'une influence du taux de gel sur les propriétés rhéologiques est recherchée.

4. Conclusions

Les travaux de thèse présentés dans ce chapitre permettent ainsi d'expliquer les propriétés rhéologiques des gommes de caoutchouc naturel laminées, par des différences de mésostructure étudiées par SEC-MALS en mode TBABr. Les modules de conservation (G') et de perte (G'') ainsi que les coefficients d'amortissement ($\tan\delta$) mesurés sont clairement gouvernés par la longueur des chaînes macromoléculaires de poly(*cis*-1,4-isoprène) du matériau (Tableau 24). Aux faibles fréquences, les macromolécules de masses molaires élevées influent sur ces propriétés rhéologiques. A l'inverse, les chaînes de faibles masses molaires ont un rôle plus important sur la valeur des modules mesurés aux fréquences élevées. La fréquence à laquelle le module de perte maximal (G''_{max}) est mesuré serait quant à elle régie par l'indice de polydispersité des chaînes macromoléculaires (Figure 57). Le taux de gel total des gommes laminées joue également un rôle important dans les propriétés rhéologiques mesurées. La corrélation significative mise en évidence entre le paramètre K'

du modèle de Perez ^[111, 113] et le taux de gel total des gommés (Figure 61) traduit en effet une influence de la phase gel sur l'évolution des modules de cisaillement G' et G'' aux faibles fréquences. Ces résultats constituent la première étude dans laquelle la quantité totale de gel d'un échantillon de caoutchouc naturel est directement liée aux propriétés rhéologiques de la gomme.

Rappelons toutefois que les échantillons étudiés ont été soumis à une phase de laminage avant d'être caractérisés. Cette phase de laminage est une étape importante de la conception des éprouvettes cylindriques, mais peut entraîner une dégradation du matériau étudié. Il serait donc intéressant de réitérer cette étude sur des gommés non laminés, en mesurant leurs propriétés rhéologiques en RPA par exemple. Dans cette thèse, il s'agissait d'abord de valider la méthode développée en DMTA afin de justifier son utilisation pour caractériser des échantillons de macrogel isolés.

Ainsi, ces travaux permettent de mieux comprendre l'origine des propriétés rhéologiques particulières du caoutchouc naturel. Ils justifient également l'intérêt porté sur la phase gel du caoutchouc naturel dans cette thèse. Une caractérisation physico-chimique approfondie de la phase gel du caoutchouc naturel est ainsi présentée dans le dernier chapitre de ce manuscrit.

CHAPITRE 3

Caractérisation physico-chimique de la phase gel du caoutchouc naturel

Le dernier chapitre de ce manuscrit présente les travaux de caractérisation physico-chimique réalisés sur la phase gel du caoutchouc naturel. Rappelons que cette phase gel est constituée de deux fractions distinctes : le macrogel et le microgel ^[61]. Le macrogel est facilement isolable par centrifugation d'une solution de caoutchouc naturel ^[53]. Le microgel, constitué de microagrégats dispersés dans la fraction soluble, est généralement quantifié de manière indirecte après filtration de la solution ^[71, 76]. Dans ce chapitre, une distinction a été réalisée entre les fractions macrogel et microgel. La première partie de ce chapitre porte sur une caractérisation des microagrégats constituant le microgel du caoutchouc naturel. Dans la deuxième partie, les macrogels extraits à partir d'une sélection de gommés issues du projet CANAOPT, ont été caractérisés de façon approfondie dans le but de proposer un modèle décrivant les interactions structurant cette fraction insoluble.

1. Caractérisation du microgel du caoutchouc naturel

La filtration d'une solution de caoutchouc naturel permet d'éliminer une partie des microagrégats présents dans la fraction soluble ^[53]. Une fois piégés dans le filtre, ces microagrégats ne peuvent pas être récupérés en vue d'une caractérisation physico-chimique. Seule la quantification du taux de microgel filtré est donc généralement réalisée ^[71]. Dans la littérature, il n'existe à ce jour aucune méthode permettant d'isoler le microgel du caoutchouc naturel en vue d'une caractérisation. Ainsi, seules quelques équipes ont tenté de caractériser les microagrégats du caoutchouc naturel ^[73, 83]. Rippel *et al.* ^[83] ont fabriqué des films de caoutchouc naturel, et caractérisé les microagrégats par microscopie électronique en transmission couplée à de la spectroscopie de perte d'énergie des électrons. Voznyakovskii *et al.* ^[73] ont caractérisé par diffusion dynamique de la lumière (*DLS : Dynamic Light Scattering*) des solutions de caoutchouc naturel, et ainsi étudié la taille des microagrégats présents.

Dans cette partie, une méthode de séparation des microagrégats du caoutchouc naturel développée durant cette thèse, est présentée. Dans un premier temps, l'ultracentrifugation d'une fraction soluble ou l'adsorption préférentielle des microagrégats sur silice poreuse, ont été envisagées pour isoler le microgel. Après de premiers résultats peu concluants, ces deux méthodes ont rapidement été abandonnées au profit de la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) sur des colonnes conditionnées avec une solution de TBABr.

1.1. Préparation d'une solution de Microgel_{<1μ} par « SEC préparative en mode TBABr »

L'utilisation de colonnes de SEC conditionnées avec une solution de TBABr (0,3% m/v), permet de séparer les chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) et les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1μ}) présents dans une fraction soluble filtrée (Figure 33). L'utilisation de cette méthode, présentée dans les chapitres précédents, a été envisagée pour préparer une solution de Microgel_{<1μ}. La gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1) a été sélectionnée pour cette étude. La fraction soluble filtrée à 1 μm d'une solution préparée à 0,1% (m/v) dans du THF stabilisé, a été injectée de façon répétée pendant 48 h, sur des colonnes SEC conditionnées et stabilisées. Les paramètres structuraux des deux populations de microagrégats et des pelotes statistiques présents dans la fraction soluble injectée en SEC-MALS en mode TBABr, sont rappelés dans le tableau 27. Pour chacune des injections, la fraction éluant entre 10 et 13 minutes a été collectée (Figure 62). Cette fraction est supposée être uniquement composée de microagrégats de tailles inférieures à 1 μm. Les fractions récoltées ont ensuite été regroupées.

Tableau 27. Paramètres structuraux des différentes populations détectées par SEC-MALS en mode TBABr, pour la fraction soluble filtrée à 1 μm de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1).

| Fraction intégrées | M _n (kg/mol) | M _w (kg/mol) | M _z (kg/mol) | I | R _g (nm) | d _{app} (kg/m ³) |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|------------------------|--|
| Microgel _{<1μ} - Population 1 | 2283 (12%) | 2412 (15%) | 2620 (22%) | 1,05 (4%) | 84,1 (2%) | 1,53 (19%) |
| Microgel _{<1μ} - Population 2 | 1834 (8%) | 1849 (8%) | 1863 (8%) | 1,01 (0%) | 91,5 (1%) | 0,95 (5%) |
| Pelotes statistiques | 479 (5%) | 916 (4%) | 1423 (7%) | 1,92 (9%) | 80,0 (0%) | - |

Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

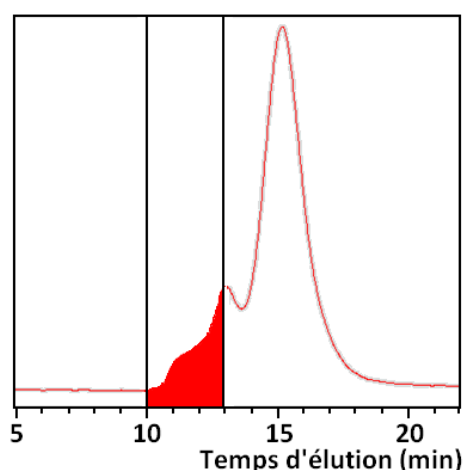


Figure 62. Fraction de microagrégats collectée par SEC préparative en mode TBABr, pour une solution de caoutchouc naturel préparée à partir de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1).

La solution préparée à partir de la gomme CA10CIP11 a présenté un taux de Microgel_{<1 μ} de 8% lors de ces essais. En prenant en compte la concentration de la solution de caoutchouc naturel (0,1% m/v) et le volume injecté en SEC (50 μ L), la quantité maximale de microagrégats récupérée pour chacune des injections est de l'ordre de 4 μ g. Le débit de la phase mobile (0,35 ml/min) conduit à une concentration théorique de 3,8 mg/L. La solution collectée a ensuite été concentrée trois fois, par évaporation du solvant.

Ainsi, l'utilisation de la SEC en mode TBABr ne permet pas d'extraire des quantités importantes de microagrégats, et entraîne certaines limitations quant aux outils de caractérisation utilisables. Notamment, la concentration réelle de la solution, par mesure de l'extrait sec, n'est pas déterminable. De la même façon, l'analyse par SEC-MALS en mode TBABr, généralement utilisée sur des solutions à 0,1% m/v, ne peut pas être réalisée. Finalement, seuls certains outils ne nécessitant pas de quantités de matière importantes, ont pu être utilisés afin de caractériser cette solution de Microgel_{<1 μ} . La microscopie électronique en transmission (TEM) s'est ainsi révélée être une technique adaptée pour la caractérisation des microagrégats isolés. Une caractérisation par DLS de la solution de Microgel_{<1 μ} a également été réalisée.

1.2. Caractérisation de la solution de Microgel_{<1 μ} par microscopie électronique en transmission

Un dépôt réalisé à partir de la solution de Microgel_{<1 μ} a été caractérisé par TEM, après évaporation du THF (Figure 63). De nombreuses particules peuvent être observées. Les particules les plus fines présentant des diamètres inférieures à 100 nm, sont également présentes dans des dépôts réalisés à partir de THF pur filtré à 200 nm, et ne peuvent donc pas être attribuées au caoutchouc naturel. Au contraire, les particules de tailles plus importantes (A-I, Figure 63), n'ont pas été observées dans le solvant et sont donc issues de la gomme CA10CIP11. De telles particules sont également visibles sur des dépôts réalisés à partir de la fraction soluble de l'échantillon, mais dans des concentrations très inférieures. L'utilisation de la SEC en mode TBABr pour préparer une solution de Microgel_{<1 μ} , a donc entraîné une concentration de ces particules, qui pourraient être des microagrégats de tailles inférieures à 1 μ m.

Le léger contraste observé entre le centre de ces particules et leur pourtour plus sombre indique qu'il s'agit probablement d'objets en trois dimensions. Lors de l'étape de métallisation, l'acétate d'uranyle s'écoule vers la grille de TEM, entraînant une concentration en éléments lourds plus importante à la base des particules. La majorité de ces particules, présentant des diamètres compris entre 200 et 500 nm (Tableau 28), constitue une première population P1. Leur forme quasi-circulaire laisse envisager une sphéricité des objets en solution. D'autres particules de tailles plus importantes ont également été observées (Figure 63), et constituent la seconde population P2. Ces derniers objets sont présents en plus faible proportion dans la solution de Microgel_{<1 μ} , et présentent des tailles plus variables comprises

entre 500 et 1000 nm. Certaines de ces particules sont de forme circulaire (F-H ; Figure 63), alors que d'autres (I ; Figure 63) sont plutôt allongées. Des interfaces sont visibles au centre de chacun des objets de la population P2, qui semblent constitués d'entités plus petites, dont la taille correspond aux particules de la population P1. Les particules les plus volumineuses seraient donc formées par agrégation de particules plus petites.

Tableau 28. Diamètres (\emptyset) ou longueur (L) des particules observées par TEM dans la solution de Microgel_{<1 μ} (Figure 63).

| Particules | Dimensions (nm) |
|------------|------------------------|
| A | $\emptyset = 341$ (6) |
| B | $\emptyset = 196$ (19) |
| C | $\emptyset = 409$ (13) |
| D | $\emptyset = 368$ (19) |
| E | $\emptyset = 336$ (13) |
| F | $\emptyset = 943$ (38) |
| G | $\emptyset = 509$ (20) |
| H | $\emptyset = 728$ (38) |
| I | L = 647 |

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types des mesures.

Ces premiers résultats semblent indiquer que les particules observées en TEM correspondent bien aux microagrégats présents dans les solutions de caoutchouc naturel. Le tableau 29 propose un récapitulatif des caractéristiques de chacune des deux populations observées. Rappelons que seuls les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}) sont supposés être présents dans la solution injectée en SEC. Les microagrégats de tailles supérieures (Microgel_{>1 μ}), sont éliminés durant l'étape de filtration. Les observations réalisées en TEM permettent cependant de proposer quelques hypothèses quant à la nature des microagrégats constituant le Microgel_{>1 μ} . En effet, les particules de la population P1 semblent être l'unité constitutive d'objets plus volumineux, qui forment la population P2. Certains de ces agrégats ont notamment montré des tailles de l'ordre du micromètre (F ; Figure 63). Il est donc très probable que des particules présentant des dimensions plus importantes puissent être formées par agrégation des particules des populations P1 et P2. Ces agrégats de tailles supérieures au micromètre seraient ainsi éliminés lors de l'étape de filtration de la fraction soluble.

Tableau 29. Caractéristiques des particules observées par TEM dans la solution de Microgel_{<1 μ} .

| Population | Taille moyenne | Forme | Structure |
|------------------|----------------|-----------------------|--|
| P1 (Majoritaire) | 200 - 500 nm | Sphérique | Uniforme |
| P2 (Minoritaire) | 500 - 1000 nm | Sphérique ou fractale | Constitués de plusieurs objets de la population P1 |

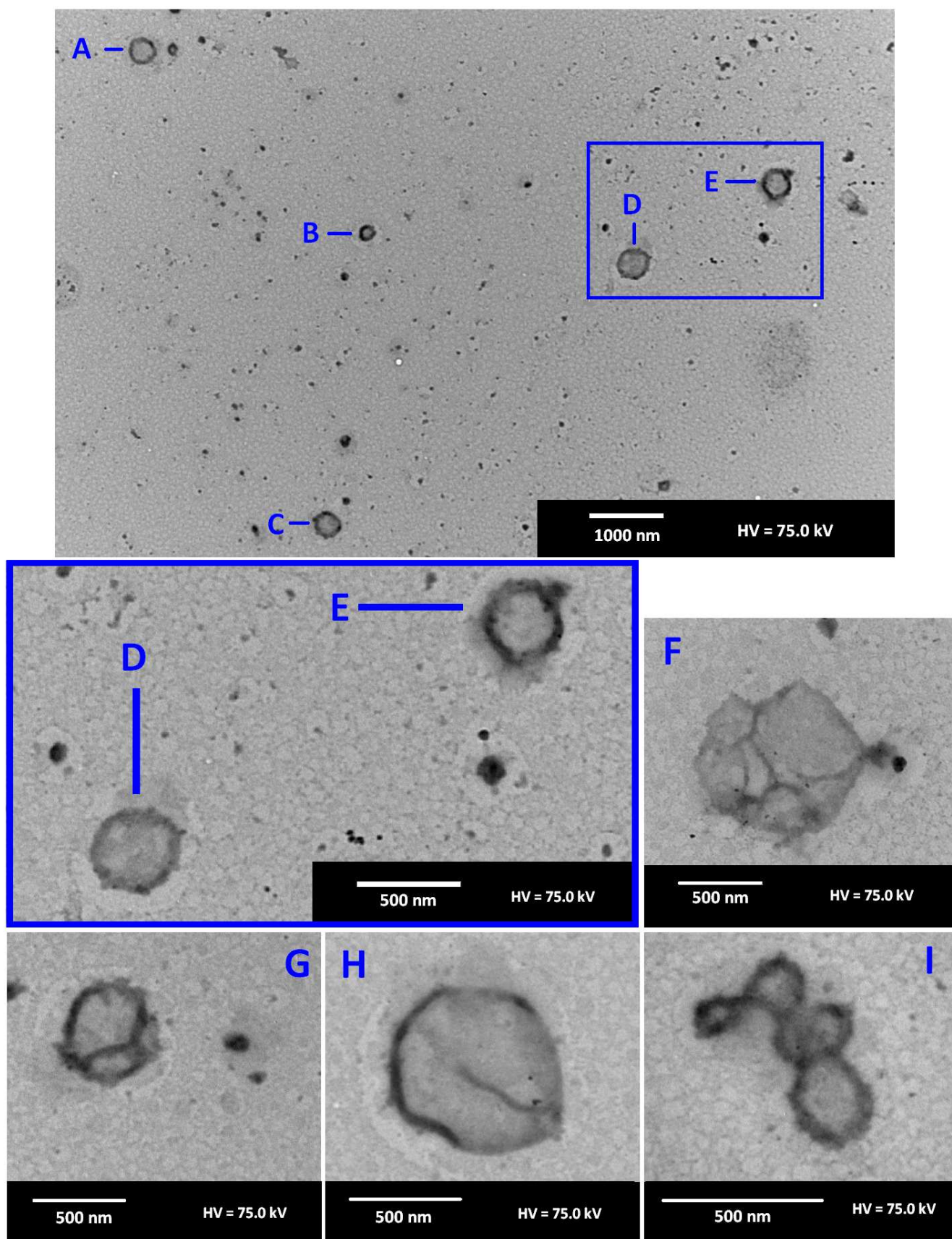


Figure 63. Observations TEM d'un dépôt réalisé à partir de la solution de Microgel_{<1μ} préparée par SEC en mode TBABr.

Notons que la présence de microagrégats a également été observée lors de l'étude du macrogel de l'échantillon CA10CIP11 en TEM (Figure 64). Le macrogel du caoutchouc naturel serait donc constitué d'une quantité importante de microagrégats.

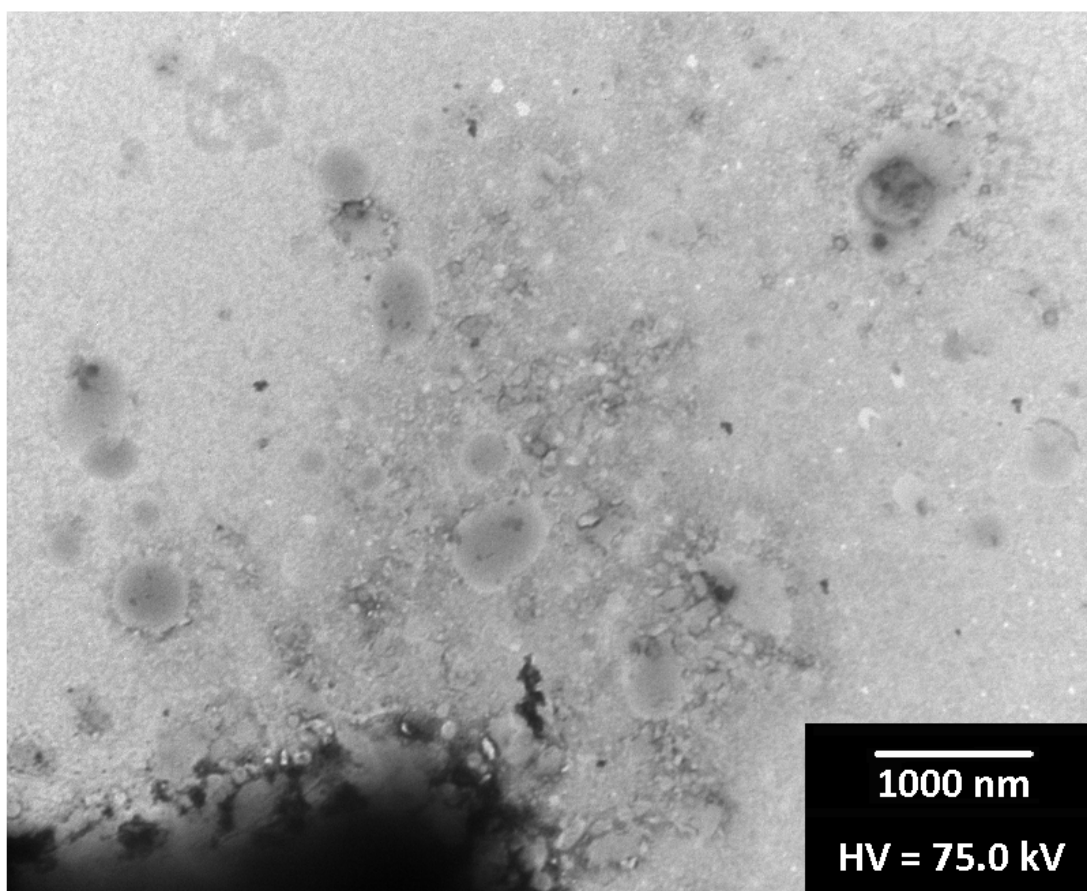


Figure 64. Observations TEM du macrogel de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1).

1.3. Caractérisation de la solution de Microgel_{<1μ} par diffusion dynamique de la lumière

La solution de Microgel_{<1μ} obtenue par SEC préparative en mode TBABr, a également été caractérisée par diffusion dynamique de la lumière (DLS), et comparée à la fraction soluble initiale filtrée à 1 μm (Figure 65). Les proportions relatives et les tailles moyennes des particules présentes dans les deux solutions, calculées à partir de la distribution en nombre, sont reportées dans le tableau 30.

Concernant la fraction soluble filtrée à 1 μm, la quasi-totalité des particules en solution présentent un diamètre moyen inférieur à 30 nm (Figure 65). Ces particules représentent environ 65% du volume de matière en solution, et sont probablement des pelotes statistiques, largement majoritaires dans la fraction soluble filtrée à 1 μm. Deux autres populations avec des diamètres moyens respectifs de 100 nm et 1000 nm environ, sont visibles dans la distribution en volume. La quantité de particules de tailles comprises entre 100 et 1000 nm est cependant très limitée, puisque ces objets ne sont pas présents dans la

distribution en nombre. Ces particules sont probablement des microagrégats constituant le Microgel_{<1μ}.

Les particules de tailles inférieures à 200 nm ne sont pas retrouvées dans la solution de Microgel_{<1μ} (Figure 65). Seules des particules de tailles plus importantes sont détectées : les distributions en nombre et en volume permettent d'identifier deux populations, notées P1' et P2', constituées de particules présentant des diamètres respectifs de 400-500 nm et de 800-1900 nm (Tableau 30). Des objets de tailles identiques sont présents sur la distribution en volume de la fraction soluble filtrée à 1 μm. L'utilisation de la SEC préparative en mode TBABr a donc permis de concentrer considérablement ces particules, qui sont probablement des microagrégats constituant le Microgel_{<1μ}. Les dispersions importantes observées au niveau des proportions et des tailles moyennes des populations P1' et P2', peuvent être expliquées par la faible concentration de la solution de Microgel_{<1μ}.

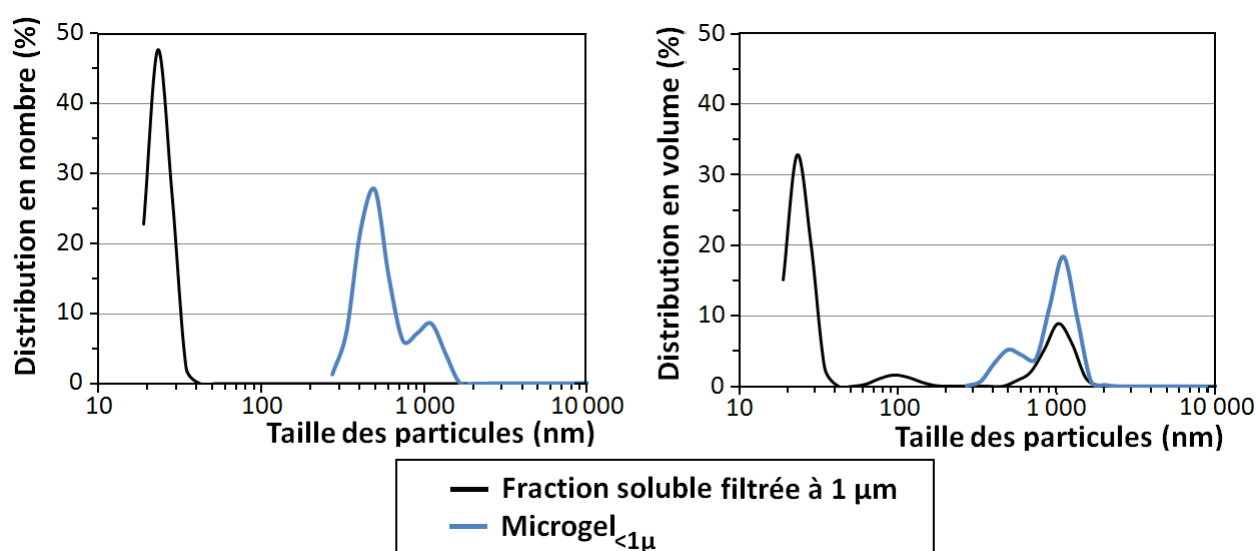


Figure 65. Distributions en nombre et en volume des particules présentes dans la fraction soluble filtrée à 1 μm et dans la solution de Microgel_{<1μ} préparée par SEC en mode TBABr, de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1), caractérisées par diffusion dynamique de la lumière.

Tableau 30. Proportions relatives et diamètres hydrodynamiques (D_h) moyens des particules présentes dans la fraction soluble filtrée à 1 μm et dans la solution de Microgel_{<1μ} de la gomme CA10CIP11 (TSR10, GT1), calculées à partir des distributions en nombre mesurées par DLS (Figure 65).

| Solution | Mesure | Pelotes statistiques | | Population P1' | | Population P2' | |
|----------------------------|--------|----------------------|-------|----------------|--------|----------------|---------|
| | | Proportion | D_h | Proportion | D_h | Proportion | D_h |
| Fraction soluble | 1 | 100% | 24 nm | - | - | - | - |
| | 2 | 100% | 29 nm | - | - | - | - |
| | 3 | 100% | 23 nm | - | - | - | - |
| Microgel _{<1μ} | 1 | - | - | 91% | 418 nm | 9% | 1.86 μm |
| | 2 | - | - | 75% | 495 nm | 25% | 1.02 μm |
| | 3 | - | - | 52% | 497 nm | 48% | 894 nm |

Les particules d'environ 100 nm observés sur la distribution en volume de la fraction soluble filtrée à 1 μm , sont absentes de la solution de Microgel_{<1 μ} . Il pourrait s'agir de microagrégats plus petits que ceux collectés par SEC préparative, présentant des temps d'élution compris entre 13 et 14 min (Figure 62).

1.4. Conclusions

Les travaux de caractérisation de la solution obtenue par collection de la fraction éluant entre 10 et 13 minutes en SEC-MALS en mode TBABr (Figure 62) mettent en évidence deux populations de particules de tailles microniques. Ces particules, présentes dans la fraction soluble initiale, sont concentrées lors de la préparation de Microgel_{<1 μ} .

Les populations P1 et P1' étudiées respectivement par microscopie électronique en transmission (TEM, Tableau 29) et par diffusion dynamique de la lumière (DLS, Tableau 30) présentent des diamètres équivalents, compris entre 200 et 500 nm. Il s'agirait donc d'une première population de microagrégats, éluant entre 10 et 13 minutes en SEC-MALS en mode TBABr. De la même façon, les particules de la population P2 observées par TEM (Figure 63) sont des agrégats de tailles supérieures à 500 nm, constituées de plusieurs particules de la première population. Des particules de tailles équivalentes ont également été mises en évidence par DLS (Population P2', Figure 65). Ces particules constitueraient ainsi une seconde population de microagrégats, isolées par SEC préparative en mode TBABr. La présence de plusieurs populations de microagrégats est en accord avec la littérature ^[73, 74] et avec les résultats précédents. Rappelons en effet que plusieurs populations de microagrégats sont également mises en évidence à partir des chromatogrammes des fractions solubles filtrées injectées en SEC-MALS en mode TBABr (Figure 33).

Ainsi, le conditionnement des colonnes de SEC peut également permettre de préparer une solution de Microgel_{<1 μ} . La méthode développée constitue la première méthode de séparation des microagrégats du caoutchouc naturel, permettant une caractérisation du microgel. Toutefois, seules quelques techniques de caractérisation, adaptées aux très faibles quantités de microagrégats isolés, peuvent être utilisées. Afin d'approfondir ces travaux, il serait intéressant d'étudier la solution de Microgel_{<1 μ} par TEM-EDX (*Microscopie électronique en transmission couplée à une analyse dispersive en énergie des rayons X*) afin de caractériser la composition des microagrégats observés. De premiers essais menés en STEM-EDX n'ont pas été concluants du fait de la moins bonne résolution des microscopes électroniques à balayage (MEB).

2. Caractérisation du macrogel du caoutchouc naturel

Contrairement au microgel, la fraction insoluble du caoutchouc naturel, appelée macrogel, est facilement séparable par centrifugation. Cette propriété du macrogel permet d'envisager des méthodes de caractérisation plus nombreuses. Dans ce chapitre, une étude

de caractérisation physico-chimique a été menée en parallèle sur le macrogel et sur la fraction soluble d'une sélection de 11 échantillons de caoutchouc naturel, fabriqués dans le cadre du projet CANAOPT. La composition, la structure et les propriétés rhéologiques de chacune des fractions isolées ont été comparées.

Dans un premier temps, un protocole d'extraction a été développé afin d'isoler des quantités de macrogel suffisantes pour réaliser les travaux de caractérisation envisagés.

2.1. Protocole d'extraction de macrogel

Les travaux précédents ont permis de mettre en évidence l'influence de certaines conditions expérimentales (solvant, temps, température, etc.) sur les taux de macrogel mesurés (Chapitre 2). Ces premiers résultats ont permis de développer une méthode de quantification du taux de macrogel dans les différents échantillons. Toutefois, certaines conditions définies, telles que la concentration des solutions de caoutchouc naturel, semblent insuffisantes pour préparer des quantités importantes de macrogel. Des travaux complémentaires, présentés dans cette partie, ont été réalisés afin de développer un protocole d'extraction du macrogel.

2.1.1. *Lavage du macrogel*

Le caoutchouc naturel contient en moyenne 2% (m/m) de protéines^[17, 18]. De façon générale, les protéines et polypeptides sont insolubles dans les solvants organiques tels que le THF. Ce solvant étant utilisé lors des mises en solution des échantillons, la majorité des protéines précipite avec la fraction insoluble du caoutchouc naturel, durant la centrifugation. Ainsi, les concentrations plus importantes en protéines mesurées dans le macrogel^[57, 85, 86], ne permettent pas de conclure quant à leur rôle dans la structuration du macrogel. Il semble donc important de distinguer les protéines « structurantes », intervenant réellement dans la structure du macrogel, et les protéines « non-structurantes », insolubles en solvant organique et par conséquent présentes dans la fraction insoluble. Différents essais de lavage du macrogel, destinés à éliminer les protéines non-structurantes, ont ainsi été réalisés.

2.1.1.1. Influence du lavage sur le taux de protéines d'un macrogel

Des solutions de caoutchouc naturel à 0,5% (m/v) dans du THF stabilisé ont été préparées à partir de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) et placées 5 jours dans un bain-marie thermo-régulé à 30°C. Après centrifugation, les fractions insolubles récupérées (A) ont subi des étapes de lavage dans de l'eau ultrapure (B) ou ultrapure contenant 5% (m/v) de dodécylsulfate de sodium (SDS, C). Des dosages d'azote (Tableau 31) et des analyses par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR ; Figure 66) ont été réalisés sur les macrogels avant (A) et après lavage (B, C).

Tableau 31. Taux d'azote mesurés par la méthode Dumas, pour le macrogel de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) ayant subi différents lavages.

| Macrogel | Taux d'azote (% m/m) | |
|--|-------------------------|-------|
| A : Avant lavage | 1,79 | (10%) |
| B : Lavé avec de l'eau ultrapure | 1,50 | (10%) |
| C : Lavé avec de l'eau ultrapure contenant 5% m/v de SDS | 1,32 | (4%) |

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux coefficients de variation.

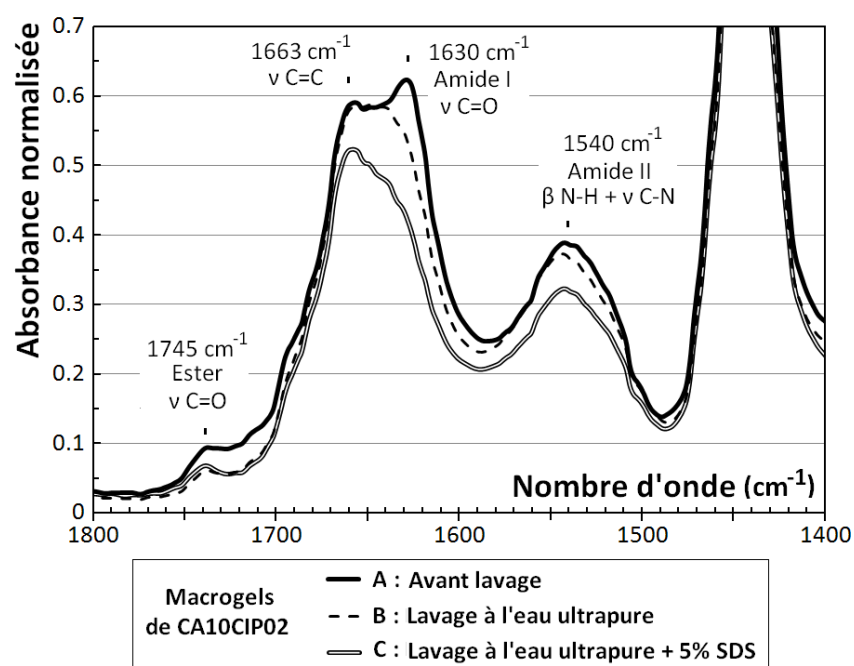


Figure 66. Spectres FT-IR normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm^{-1} , du macrogel de la gomme CA10CIP02 (TSR10, GT1) ayant subi différents lavages.

Le lavage du macrogel avec de l'eau ultrapure (B) entraîne une légère diminution de l'absorbance maximale des bandes amides I et II (Figure 66), ainsi qu'une diminution de 16% du taux d'azote initialement présent dans le macrogel (Tableau 31). Le lavage avec une solution de SDS à 5% (m/v ; C) entraîne une diminution plus importante de l'absorbance maximale des bandes amides en spectroscopie infrarouge, et une diminution de 26% du taux d'azote. Ces résultats mettent en évidence la présence de protéines non-structurantes dans la fraction insoluble initialement isolée par centrifugation. Les protéines éliminées par lavage à l'eau ultrapure (B, 16%) sont probablement des protéines hydrophiles et insolubles dans le THF. Ensuite, 10% de protéines supplémentaires peuvent être éliminées avec une solution de SDS à 5% (m/v) et sont probablement des protéines hydrophobes également insolubles dans le THF.

2.1.1.2. Caractérisation des protéines extraites

La deuxième partie de ces essais a été menée à partir de solutions préparées avec la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1) à 0,5% (m/v) dans du THF stabilisé. Après séparation des fractions soluble et insoluble, le macrogel a subi les lavages B (Eau ultrapure) et C (SDS 5% m/v) décrits précédemment. Les macrogels lavés et les eaux de lavage correspondantes ont été récupérés et séchés (Figure 67). Ensuite, pour chacune des différentes fractions isolées, 30 mg de matière ont été placés dans 1 mL d'une solution de Laemmli 1X durant 60 h. Les extraits protéiques obtenus ont été étudiés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE ; Figure 68). Cette technique permet de séparer les protéines extraites selon leur masse molaire.

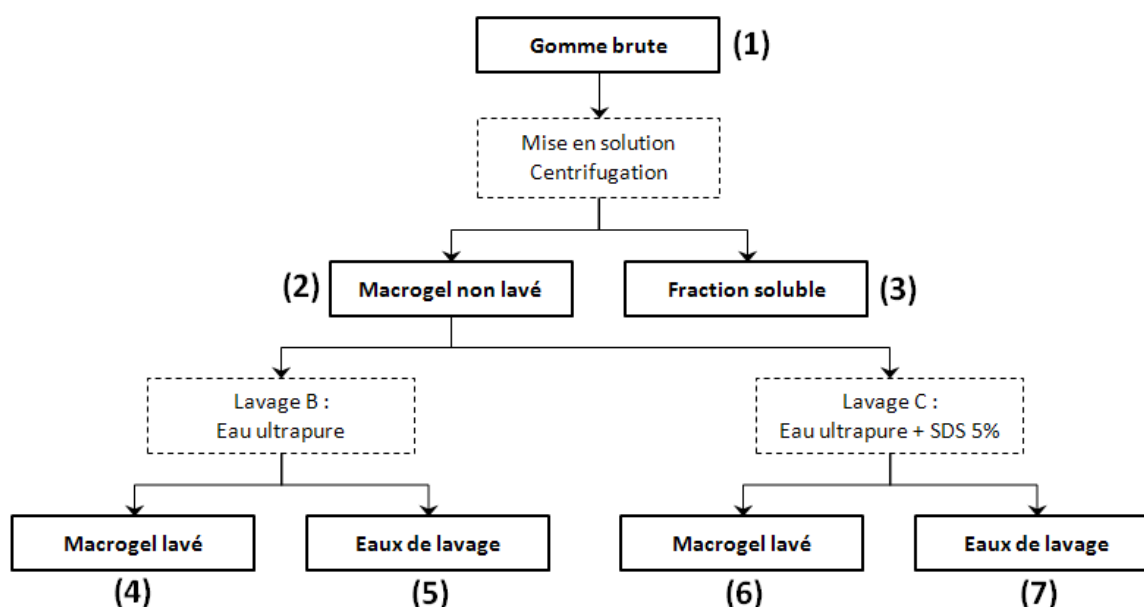


Figure 67. Fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1) étudiées par SDS-PAGE (Figure 68).

L'absence de protéines pour les dépôts correspondant à la gomme brute (1), à la fraction soluble (3) ainsi qu'aux macrogels avant (2) et après lavage (4 et 6) indique que les protéines présentes dans ces différents échantillons n'ont pas pu être extraites dans les conditions expérimentales mises en place (Figure 68). Au contraire, plusieurs bandes protéiques sont observables pour les eaux de lavage (5) récupérées après le lavage B (eau ultrapure). Les masses des protéines correspondantes sont comprises entre 31,0 et 45,0 kDa pour les plus légères, et sont supérieures à 97,4 kDa pour les plus lourdes. Ces protéines sont donc initialement présentes dans la fraction insoluble récupérée après centrifugation (2), et dans la gomme brute (1), mais n'ont pas été extraites avec la solution de Laemmli 1X. Seul le lavage à l'eau ultrapure (B) permet d'éliminer ces protéines hydrophiles qui ne participent pas à la structuration du macrogel.

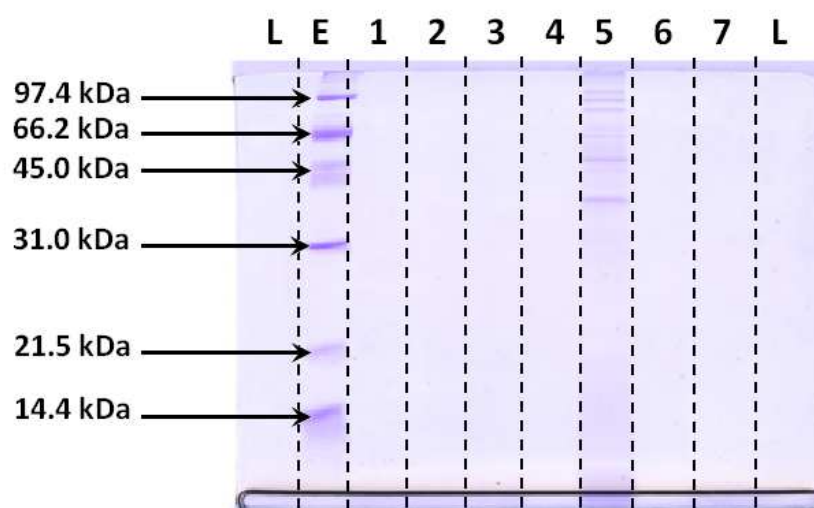


Figure 68. Gel d'électrophorèse SDS-PAGE des extraits protéiques obtenus à partir des différentes fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1 ; Figure 67) : Gomme brute (1) ; Macrogel avant lavage (2) et fraction soluble (3) ; Macrogel lavé à l'eau ultrapure (4) et eaux de lavage correspondantes (5) ; Macrogel lavé avec une solution de SDS 5% m/v (6) et eaux de lavage correspondantes (7). Les dépôts L et E correspondent respectivement au Laemmli seul et à une solution de protéines étalons.

Aucune bande protéique n'a pu être observée dans le cas des eaux de lavage C (7). En fait, le résidu obtenu après séchage de ces eaux de lavage est essentiellement composé de SDS. Les protéines extraites (Figure 66) sont en trop faible quantité par rapport au SDS, et n'apparaissent donc pas sur le gel d'électrophorèse. Il serait toutefois intéressant de comparer les masses molaires des protéines extraites par les lavages B et C. Pour cela, les protéines extraites présentes dans les eaux de lavage C, contenant du SDS, devront d'abord être suffisamment concentrées.

Notons que l'extraction des protéines du caoutchouc naturel par mise en présence d'échantillons solides et secs dans une solution de Laemmli est très difficile. L'extraction de certaines protéines est facilitée par l'étape de lavage en solution aqueuse, d'échantillons pré-gonflés en solvant organique. Il pourrait donc s'agir d'une piste à suivre pour le développement d'une méthode d'extraction des protéines du caoutchouc naturel.

2.1.1.3. Conclusions

Ainsi, pour deux gommes de grade TSR10 fabriquées à partir de latex du clone GT1, deux types de lavage de la fraction insoluble ont été étudiés. Le lavage à l'eau ultrapure (B) permet d'éliminer une quantité importante de protéines hydrophiles, présentes dans la fraction insoluble de par leur insolubilité en solvant organique. Ces protéines sont retrouvées dans les eaux de lavage et sont caractérisables par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Elles présentent des masses molaires relativement importantes, très

supérieures à 31 kDa. Le lavage de la fraction insoluble avec une solution de SDS à 5% (m/v ; C) est le plus efficace. Il permet d'éliminer les protéines hydrophiles précédentes ainsi que des protéines hydrophobes supplémentaires. La présence de SDS dans les eaux de lavage ne permet pas de caractériser directement les protéines extraites. Les protéines éliminées avec ces différents lavages, ne structurent pas le macrogel. Il est essentiel de prendre en compte et d'éliminer ces protéines non-structurantes avant une caractérisation physico-chimique du macrogel du caoutchouc naturel. Des étapes de lavage du macrogel ont donc été incorporées dans le protocole d'extraction de macrogel développé.

2.1.2. Définition du protocole d'extraction

La figure 69 détaille les différentes étapes du protocole mis en place pour préparer des quantités importantes de macrogel et de fraction soluble, en vue d'une caractérisation physico-chimique. La gomme de caoutchouc naturel est dans un premier temps mise en solution à 0,5% (m/v) dans du THF stabilisé. Notons qu'à cette concentration, un taux de macrogel plus important est mesuré et traduit une moins bonne dissolution du matériau (Figure 48). Afin de prendre en compte ce phénomène, la fraction insoluble isolée par centrifugation après 5 jours à 30°C, est remise en solution dans du THF stabilisé durant 2 jours supplémentaires. Cette étape vise à éliminer les chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) non-liées et piégées dans le macrogel. La fraction insoluble isolée après la seconde centrifugation est ensuite lavée avec une solution de SDS à 5% (m/v ; Lavage C), puis avec de l'eau ultrapure (Lavage B) pour éliminer les possibles traces de SDS. Ces étapes permettent d'extraire les protéines non-structurantes, insolubles en solvant organique. Les protéines non extraites sont supposées intervenir dans la structure du macrogel.

2.2. Sélection de 11 échantillons de caoutchouc naturel

Dans la suite de ce chapitre, onze gommes issues du projet CANAOPT ont été étudiées. Pour chacun des échantillons, la fraction soluble et le macrogel ont été extraits selon le protocole défini (Figure 69). Les gommes brutes et leurs différentes fractions ont ensuite été caractérisées à l'aide d'outils variés (Tableau 32).

Plusieurs critères ont permis de sélectionner ces onze gommes. Les trois grades étudiés dans le projet CANAOPT (TSR3CV, TSR10 et TSR10CV) et les trois clones les plus plantés à l'heure actuelle (GT1, RRIM600 et PB235) sont représentés. La quantité de macrogel de l'échantillon a également été prise en compte. Quatre gommes TSR10 présentant des taux de macrogel supérieurs à 15% (m/m), ont été sélectionnées. Les sept autres échantillons sélectionnés présentent des taux de macrogel compris entre 4,4% et 7,4% (m/m).

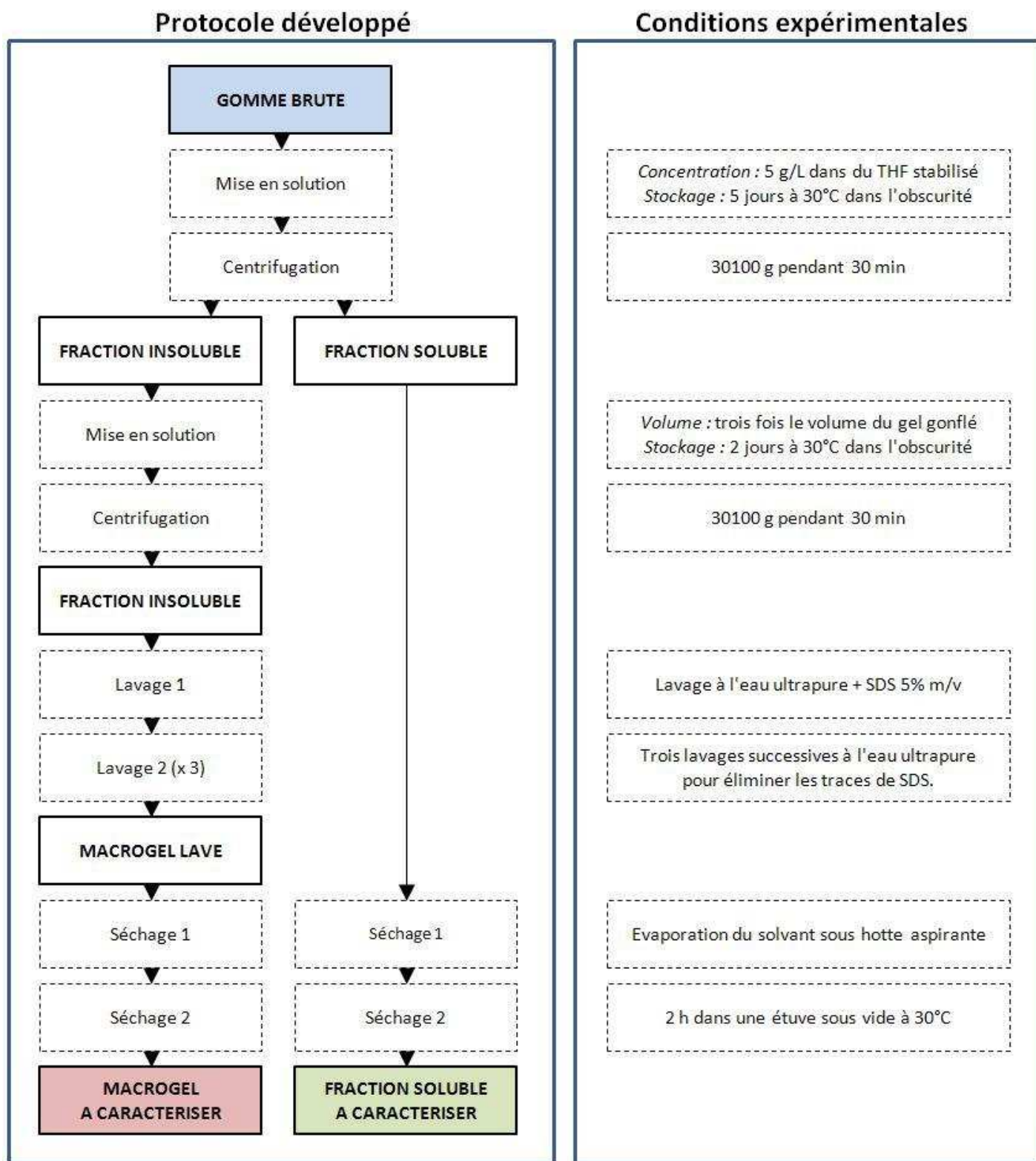


Figure 69. Protocole d'extraction de macrogel et de fraction soluble, et détails des conditions expérimentales.

Tableau 32. Travaux de caractérisation réalisés sur les différentes fractions d’une sélection de onze gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT.

| Echantillon | Grade | Clone | Taux de macrogel extraits (%) ** | | Extraction lipidique | ICP-MS | MEB-EDX | Spectroscopie RMN | Propriétés rhéologiques | Taux de gonflement | | |
|----------------|---------|---------|----------------------------------|---------------------|----------------------|--------|---------|-------------------|-------------------------|--------------------|---|---|
| | | | Taux de macrogel (%) * | Spectroscopie FT-IR | | | | | | | | |
| CA 3CV VN P03 | TSR3CV | GT1 | 6,0 | 1,6 | ● | ● | | | | ● | ● | ● |
| CA 3CV VN P10 | TSR3CV | GT1 | 5,6 | 3,6 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 CI P01 | TSR10 | GT1 | 5,2 | 2,8 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 CI P16 | TSR10 | GT1 | 17,1 | 14,0 | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| CA 10 CI P18 | TSR10 | GT1 | 7,1 | 5,2 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 CI P21 | TSR10 | GT1 | 16,9 | 15,4 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 CI P08 | TSR10 | PB235 | 4,4 | 1,3 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 TH P01 | TSR10 | RRIM600 | 26,8 | 20,8 | ● | ● | | | | | ● | ● |
| CA 10 TH P03 | TSR10 | RRIM600 | 23,4 | 25,7 | ● | ● | ● | ● | ● | | ● | ● |
| CA 10CV CI P03 | TSR10CV | GT1 | 5,7 | 2,1 | ● | ● | | | | ● | ● | ● |
| CA 10CV CI P13 | TSR10CV | GT1 | 7,4 | 4,7 | ● | ● | | | | | ● | ● |

* Taux de macrogel de la gomme, quantifié dans les conditions expérimentales déterminées dans le chapitre 2.

** Quantité de macrogel récupérée après extraction, selon le protocole détaillé dans la figure 69.

Pour chacun des échantillons sélectionnés, la composition des fractions extraites et de la gomme brute ont été évaluées par spectroscopie FT-IR. Les taux d’azote ont également été mesurés pour quantifier précisément les taux de protéines présentes. Les propriétés rhéologiques de chacune des fractions extraites, mesurées en double cisaillement, ont été comparées à celles de la gomme brute correspondante. Enfin, des mesures de taux de gonflement ont été réalisées sur chacun des macrogels isolés.

Pour deux échantillons de grade TSR10 présentant des taux de macrogel importants, la répartition des lipides et des éléments minéraux dans chacune des fractions a été étudiée. Les extractions lipidiques, ou les travaux réalisés en ICP-MS et en MEB-EDX, nécessitant des quantités de matière importantes ; ces outils de caractérisation n’ont pas pu être utilisés pour les neuf échantillons restants.

Enfin, une étude en spectroscopie RMN du solide a également été réalisée sur trois échantillons et leurs fractions respectives. Les échantillons sélectionnés sont de grades différents, mais ont tous été fabriqués à partir de latex du clone GT1.

2.3. Composition des différentes fractions isolées

Le caoutchouc naturel est constitué d'environ 6% (m/m) de composés non-isoprènes, tels que les lipides (1,5 – 3,0% m/m), les protéines (2% m/m) et les éléments minéraux (0,2% m/m) ^[17-19]. Dans la littérature, chacune de ces trois classes de composés est supposée intervenir dans la structuration du gel du caoutchouc naturel ^[13, 81, 82]. La composition des fractions solubles et des macrogels des onze gommes de caoutchouc naturel a donc été caractérisée afin d'étudier la répartition de ces composés non-isoprènes et d'établir le rôle de chaque groupe dans la structure associative du caoutchouc naturel.

2.3.1. Teneur en protéines

Les taux d'azote des fractions solubles et des macrogels extraits à partir des 11 gommes de caoutchouc naturel ont été mesurés par la méthode Dumas (Tableau 33). Les atomes d'azote étant principalement portés par les protéines et polypeptides du caoutchouc naturel, cette méthode permet d'estimer les quantités de protéines contenues dans chacune des fractions étudiées.

Tableau 33. Taux d'azote des différentes fractions de onze échantillons de caoutchouc naturel.

| Gomme | Taux de macrogel extrait (%) | Taux d'azote (% m/m) | | | | | | Bilans matière | | |
|----------------|------------------------------|----------------------|---------|-----------------------|---------|---------------|---------|----------------|-------|--------|
| | | Gomme brute | | Fraction soluble (FS) | | Macrogel (MG) | | FS | MG | Perte |
| CA 3CV VN P03 | 1,6 | 0,496 | (0,008) | 0,129 | (0,001) | 8,121 | (0,152) | 25,6% | 26,2% | -48,2% |
| CA 3CV VN P10 | 3,6 | 0,436 | (0,004) | 0,128 | (0,003) | 5,935 | (0,040) | 28,3% | 49,0% | -22,7% |
| CA 10 CI P01 | 2,8 | 0,332 | (0,008) | 0,180 | (0,011) | 5,228 | (0,185) | 52,6% | 44,1% | -3,3% |
| CA 10 CI P16 | 14,0 | 0,296 | (0,002) | 0,122 | (0,002) | 1,181 | (0,019) | 35,4% | 55,8% | -8,8% |
| CA 10 CI P18 | 5,2 | 0,293 | (0,002) | 0,165 | (0,013) | 2,216 | (0,177) | 53,3% | 39,3% | -7,4% |
| CA 10 CI P21 | 15,4 | 0,278 | (0,006) | 0,057 | (0,002) | 0,909 | (0,029) | 17,3% | 50,3% | -32,4% |
| CA 10 CI P08 | 1,3 | 0,208 | (0,002) | 0,139 | (0,041) | 3,717 | (0,196) | 65,9% | 23,3% | -10,8% |
| CA 10 TH P01 | 20,8 | 0,298 | (0,007) | 0,062 | (0,014) | 1,170 | (0,025) | 16,4% | 81,7% | -1,9% |
| CA 10 TH P03 | 25,7 | 0,254 | (0,006) | 0,055 | (0,003) | 0,743 | (0,014) | 16,2% | 75,2% | -8,6% |
| CA 10CV CI P03 | 2,1 | 0,336 | (0,009) | 0,194 | (0,012) | 4,391 | (0,204) | 56,6% | 27,4% | -16,0% |
| CA 10CV CI P13 | 4,7 | 0,269 | (0,011) | 0,118 | (0,021) | 2,191 | (0,071) | 41,8% | 38,2% | -20,0% |

- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les bilans matière ont été réalisés à partir des quantités de macrogels récupérées lors de la séparation des différentes fractions (Figure 69). [FS(%) = 100 – MG (%)].

Quelque soit la gomme considérée, le taux d'azote de la fraction soluble est inférieur à celui de l'échantillon brut correspondant (Tableau 33). Les taux d'azote des fractions solubles varient en effet entre 0,05% et 0,19% (m/m), alors qu'ils sont compris entre 0,21% et 0,50% (m/m) pour les gommes brutes. Au contraire, les macrogels (« lavés ») sont bien plus concentrés en azote que les gommes brutes : leurs taux d'azote sont compris entre 0,74% et 8,12% (m/m). Notons que ces taux d'azote correspondraient à des teneurs en protéines comprises entre 4,6% et 50,8% (m/m) dans les échantillons de macrogel, calculées

sur la base de 16% d'azote par protéine. Il est intéressant de noter que les deux macrogels les plus concentrés en protéines sont issus des deux gommes de grade TSR3CV. Egalement, les quatre macrogels présentant les taux d'azote les plus faibles (0,74-1,18% m/m) sont issus des gommes TSR10 présentant les taux de macrogel les plus élevés.

Ainsi, des concentrations importantes d'azote ont été mesurées pour les 11 macrogels étudiés (Tableau 33), traduisant des teneurs en protéines très élevées par rapport aux gommes brutes correspondantes. Les protéines et polypeptides du caoutchouc naturel sont donc fortement concentrés dans le macrogel, en accord avec la littérature [57, 85, 86]. Toutefois, les protéines contenues dans le macrogel ne sont pas toujours majoritaires (Tableau 33). En effet, seulement 4 des 11 macrogels étudiés concentrent plus de 50% de l'azote initialement présent dans la gomme brute. De plus, les quantités d'azote présentes dans les fractions solubles ne sont pas négligeables. Pour l'échantillon CA10CIP08 (TSR10, PB235) par exemple, seulement 23% de l'azote initial est retrouvé dans le macrogel, tandis que la fraction soluble représente 66% de l'azote de la gomme brute. Il est intéressant de noter que des pertes d'azote, représentant de 2% à 48% de l'azote initial, ont été calculées pour l'ensemble des échantillons. Ces pertes ont été attribuées à des protéines non-structurantes, éliminées durant les phases de lavage des fractions insolubles. Notons toutefois qu'une partie de l'azote éliminé pourrait également être présent dans la fraction soluble isolée lors de la deuxième centrifugation (Figure 69).

Les protéines non-éliminées durant les étapes de lavage, représenteraient ainsi entre 4,6% et 50,8% de la masse des 11 macrogels étudiés, et sont supposées intervenir dans la structure du macrogel. Rappelons toutefois qu'il n'existe pas de relation entre le taux de protéines et le taux de macrogel d'une gomme de caoutchouc naturel.

2.3.2. Caractérisation de la composition des fractions par spectroscopie FT-IR

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) en réflexion totale atténuée (ATR) est un outil puissant pour quantifier rapidement certains composés non-isoprènes du caoutchouc naturel (Chapitre 1), comme les protéines ou certains lipides (esters, acides gras libres). La méthode développée pour la caractérisation de gommes brutes, a été appliquée aux fractions solubles et aux macrogels extraits à partir des onze gommes sélectionnées (Tableau 32). La présence de bandes de vibration caractéristiques des liaisons carbonyles des groupements fonctionnels esters ($1748-1738\text{ cm}^{-1}$) et carboxyles (1711 cm^{-1}), ou des groupements fonctionnels amides (Amide I : 1630 cm^{-1} ; Amide II : 1540 cm^{-1}) a été vérifiée pour chacun des échantillons. Chaque spectre infrarouge a été normalisé par l'absorbance maximale de la bande de vibration à 840 cm^{-1} , correspondant à la déformation angulaire hors du plan de la liaison $=\text{C-H}$ du monomère *cis*-1,4-isoprène.

Concernant les deux bandes amides dans un premier temps, chacun des macrogels étudiés a présenté des bandes plus intenses que celles mesurées pour les gommes brutes

correspondantes (Figures 70, 71). Au contraire, les bandes amides les moins intenses ont été enregistrées pour les fractions solubles des onze gommés étudiées. Ces observations sont en accord avec les dosages d'azote réalisés précédemment qui traduisent des concentrations plus importantes en protéines et polypeptides dans les macrogels (Tableau 33). Des variations importantes sont observées au niveau des absorbances maximales des bandes amides des différents macrogels, et permettent de mettre en évidence des concentrations en protéines très différentes. Les absorbances maximales normalisées de la bande amide I (1630 cm^{-1}) des 11 macrogels étudiés évoluent linéairement avec leur taux d'azote (Figure 72). Ces résultats viennent compléter le modèle proposé précédemment dans le cadre de l'analyse de gommés brutes (Figure 31). Notons cependant que pour le macrogel de la gomme CA3CVNP03, présentant le taux d'azote le plus important (N : 8,12% m/m), l'absorbance maximale normalisée mesurée pour la bande amide I (1630 cm^{-1}) est plus importante que celle prévue par le modèle. Pour cet échantillon, la proportion de protéines dans le macrogel a été estimée à 50,8% (m/m). La normalisation des spectres infrarouges par la bande caractéristique du monomère *cis*-1,4-isoprène (840 cm^{-1}) pourrait donc ne pas être adaptée pour les macrogels les plus concentrés en protéines.

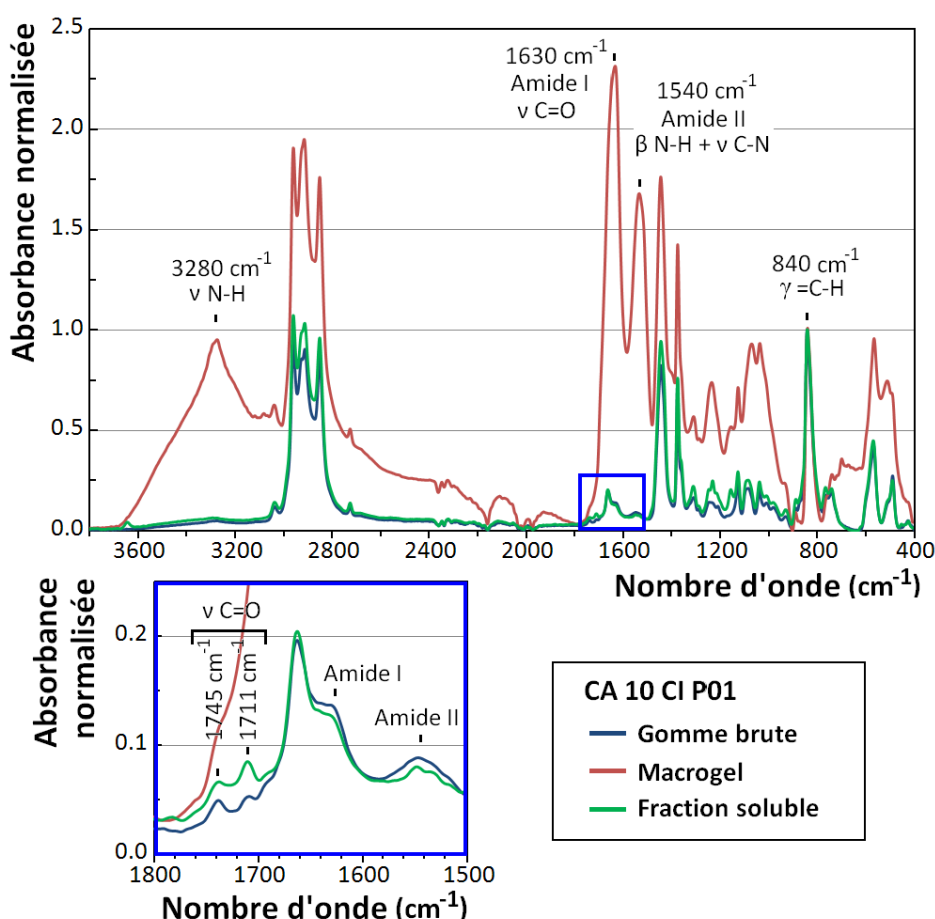


Figure 70. Spectres FT-IR des différentes fractions de la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1), normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm^{-1} (monomère *cis*-1,4-isoprène).

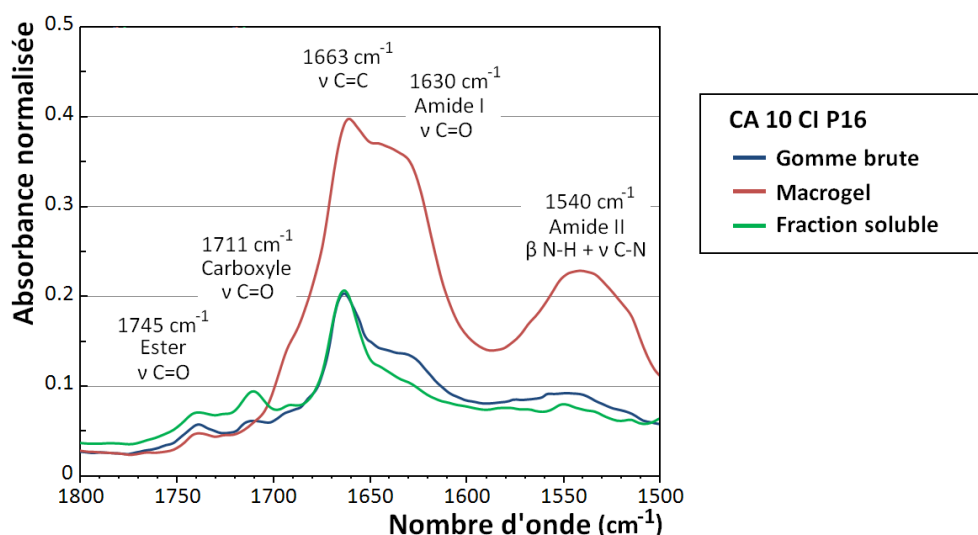


Figure 71. Spectres FT-IR des différentes fractions de la gomme CA10CIP16 (TSR10, GT1), normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm^{-1} (monomère *cis*-1,4-isoprène).

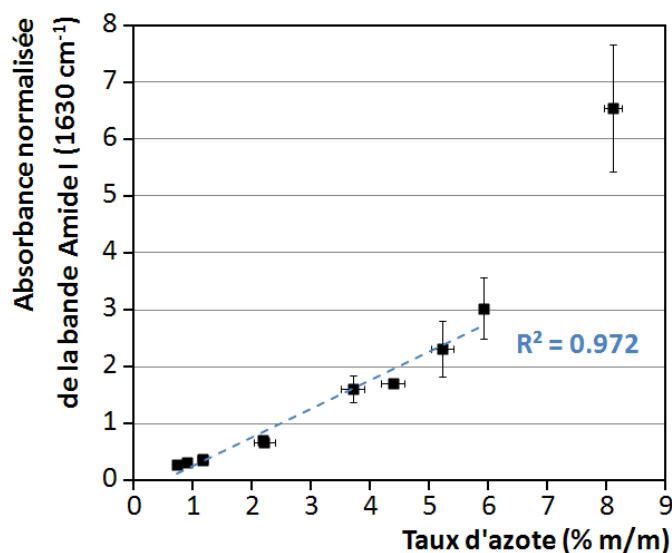


Figure 72. Evolution de l'absorbance maximale normalisée de la bande amide I (1630 cm^{-1}) avec le taux d'azote pour les macrogels de onze gommes de caoutchouc naturel.

Les bandes de vibration présentes à $1748\text{--}1738\text{ cm}^{-1}$ et 1711 cm^{-1} , sur les spectres infrarouges des gommes de caoutchouc naturel, correspondent respectivement à l'élongation des liaisons carbonyles des groupements fonctionnels esters et carboxyles, essentiellement présents sur certains lipides du caoutchouc naturel (Tableau 7). Pour chacun des onze échantillons étudiés, ces bandes sont plus intenses pour la fraction soluble que pour la gomme brute correspondante (Figures 70, 71), traduisant des concentrations en esters et en acides gras libres plus importantes. Un léger épaulement est présent vers 1745 cm^{-1} sur les spectres des différents macrogels (Figures 70, 71), et pourrait traduire la présence de groupements fonctionnels esters, qui ne peuvent toutefois être quantifiés. De la même façon, des acides carboxyliques pourraient être présents dans les différents

macrogels, mais les concentrations très importantes en protéines ne permettent pas d'identifier de bande à 1711 cm^{-1} sur les spectres infrarouges correspondants.

Ainsi, l'étude par spectroscopie FT-IR des différentes fractions des 11 gommes sélectionnées, permet d'identifier rapidement la répartition des principaux composés non-isoprènes (protéines et lipides). Les macrogels ont ainsi présenté des concentrations en protéines plus importantes que les gommes brutes correspondantes, en accord avec les observations réalisées précédemment (Tableau 33). De la même façon, les concentrations en protéines sont plus faibles dans les fractions solubles, dépourvues de macrogel. Au contraire, les quantités d'esters et d'acides gras libres sont clairement plus importantes dans les fractions solubles que dans les gommes brutes, indiquant que les lipides sont principalement concentrés dans la fraction soluble du caoutchouc naturel. Toutefois, un épaulement observé à 1745 cm^{-1} semble traduire la présence de groupements fonctionnels esters dans la composition des différents macrogels (Figure 71).

2.3.3. Composition lipidique des différentes fractions

Des extractions lipidiques ont été réalisées selon le protocole établi par Liengprayoon *et al.* ^[24], sur deux gommes de grade TSR10 ainsi que sur leur fraction soluble et leur macrogel respectifs. Les gommes CA10THP03 (A) et CA10CIP16 (B) respectivement fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 et GT1, ont été sélectionnées pour cette étude. Trois extractions lipidiques indépendantes ont été réalisées pour les gommes brutes et les fractions solubles. De par les quantités de matière importantes nécessaires pour chaque extraction lipidique (~ 2,8 g), seule une extraction a pu être réalisée pour chacun des macrogels étudiés.

Les quantités de matière extraites à partir de chacun des échantillons sont reportées dans le tableau 34. Les gommes brutes présentent des extraits lipidiques compris entre 2,09% (A : RRIM600) et 2,63% m/m (B : GT1). Les quantités de matière extraites à partir des fractions solubles sont plus importantes (A : 5,53% ; B : 5,25% m/m), alors que les deux macrogels présentent des taux très inférieurs, de l'ordre de 0,5-0,6% (m/m). Ces premiers résultats confirment les observations réalisées en spectroscopie FT-IR (Figures 70, 71), qui suggèrent que les lipides du caoutchouc naturel sont concentrés dans la fraction soluble.

Des bilans matières ont été réalisés en normalisant les extraits lipidiques mesurés pour les différentes fractions par leur proportion respective dans l'échantillon correspondant (Tableau 34). Les taux de macrogels utilisés pour cette normalisation sont de 25,7% pour la gomme CA10THP03 (A : RRIM600) et de 14,0% pour la gomme CA10CIP16 (B : GT1), et correspondent aux quantités de macrogel récupérées lors de la séparation des différentes fractions (Figure 69). La normalisation de ces résultats permet de mettre en évidence un excès de matière extraite durant les extractions lipidiques réalisées sur les fractions solubles et les macrogels (Tableau 34). Concernant la gomme CA10THP03 (A) par exemple, 4,11% et

0,15% de la masse du caoutchouc brut se retrouvent respectivement dans les extraits lipidiques de la fraction soluble et du macrogel. Ainsi, 2,17% de matière supplémentaires sont extraits à partir des fractions isolées, par rapport à l'extrait lipidique de 2,09% de l'échantillon brut. Des résultats identiques sont obtenus pour la gomme CA10CIP16 (B) pour laquelle un excès de matière extraite de 1,95% est mesuré. L'extraction simultanée de chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) lors des extractions lipidiques réalisées sur les fractions solubles pourraient expliquer ces résultats. La présence de BHT dans les macrogels et les fractions solubles extraits ne permet pas d'expliquer de telles différences.

Tableau 34. Extraits lipidiques des différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16).

| | | | Proportion | Extrait lipidique (g/100g d'échantillon) | Extrait lipidique normalisé (g/100g de gomme brute) |
|---------|----------|----------------|------------|---|--|
| RRIM600 | CN | A1 | 100% | 2,09 (0,08) | 2,09 (0,08) |
| | FS | A2 | 74,3% | 5,53 (0,22) | 4,11 (0,16) |
| | MG | A3 | 25,7% | 0,58 - | 0,15 - |
| | FS + MG | A2 + A3 | | | 4,26 - |
| | Δ | A1 – (A2 + A3) | | | 2,17 - |
| GT1 | CN | B1 | 100% | 2,63 (0,11) | 2,63 (0,11) |
| | FS | B2 | 86,0% | 5,25 (0,49) | 4,51 (0,42) |
| | MG | B3 | 14,0% | 0,51 - | 0,07 - |
| | FS + MG | B2 + B3 | | | 4,58 - |
| | Δ | B1 – (B2 + B3) | | | 1,95 - |

- CN : Gomme brute de caoutchouc naturel ; FS : Fraction soluble ; MG : Macrogel.
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les extraits lipidiques normalisés prennent en compte la proportion de chaque fraction dans la gomme brute initiale.

Chaque extrait lipidique a ensuite été caractérisé par chromatographie sur couche mince (CCM), avec une phase mobile adaptée à l'étude des lipides neutres (Figure 73). L'utilisation de lipides étalons a permis de déterminer la nature de certaines substances présentes dans les différents extraits. Les deux gommes brutes A (RRIM600) et B (GT1) contiennent des stérols libres éluant avec le β -sitostérol étalon ($R_f = 0,15$). Des composés non identifiés avec un rapport frontal inférieur ($R_f = 0,06$) à celui du β -sitostérol ($R_f = 0,15$) sont présents dans chacun des deux échantillons. Les composés présentant des rapports frontaux proches de celui de l'acide oléique (C18:1 ; $R_f = 0,21$) sont des acides gras libres ($R_f = 0,19-0,22$). Une bande correspondant au γ -tocotriénol ($R_f = 0,30$) est présente pour chacune des gommes brutes. Les composés avec des rapports frontaux intermédiaires compris entre le γ -tocotriénol ($R_f = 0,30$) et la trioléine ($R_f = 0,57$) pourraient être des triacylglycérols ou de l' α -tocotriénol. Ces bandes sont très peu intenses, en accord avec les observations précédentes (Figure 27). Enfin, des bandes également peu intenses avec des rapports frontaux supérieurs à 0,80 ont été attribuées à des esters de tocotriénols et à des

stérols estérifiés ^[128]. Les deux gomme brutes présentent peu de différences, et ont donc des compositions en lipides neutres semblables. Concernant les extraits des deux fractions solubles, l'ensemble des composés présents dans les gomme brutes sont retrouvés. Toutefois, les bandes correspondantes sont moins intenses, et traduisent des concentrations inférieures. Enfin, les deux macrogels étudiés présentent uniquement quelques bandes peu intenses correspondant à des stérols libres ($R_f = 0,15$) et à des acides gras libres ($R_f = 0,19 - 0,22$). Les composés estérifiés précédents (triacylglycérols, esters de tocotriénols, stérols estérifiés) ne sont pas détectés dans ces deux échantillons. Notons la présence de quantités importantes de composés polaires au niveau de la zone de dépôt ($R_f < 0,04$) dans les extraits lipidiques des deux macrogels. Il pourrait s'agir de lipides polaires, ou de protéines très hydrophobes extraites simultanément avec les lipides et non éliminées durant le lavage de Folch. Il aurait été intéressant d'utiliser une phase mobile polaire pour déterminer par CCM la nature de ces composés. La présence de ces composés polaires indique que les taux de lipides neutres extractibles réellement présents dans ces échantillons sont inférieurs à 0,58% (A : RRIM600) et 0,51% m/m (B : GT1 ; Tableau 34). Notons que la bande correspondante ($R_f < 0,04$) est plus intense, et traduit des concentrations plus importantes, pour l'extrait lipidique du macrogel de la gomme CA10CIP16 (B : GT1), par rapport à celui du macrogel de la gomme CA10THP03 (A : RRIM600).

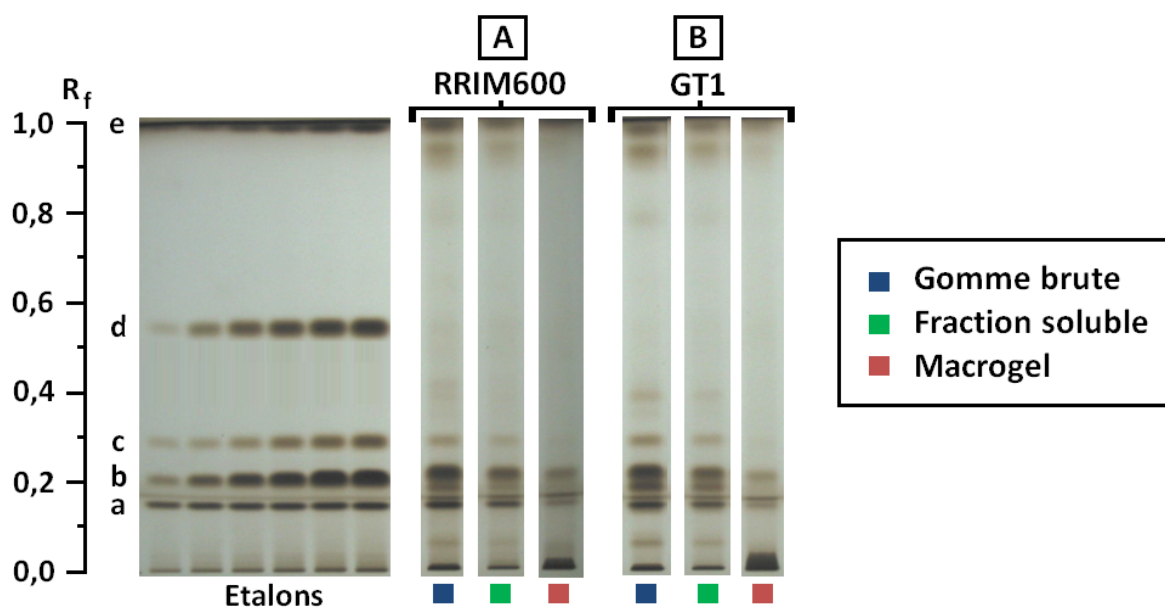


Figure 73. Analyses par chromatographie sur couche mince des extraits lipidiques des différentes fractions de deux échantillons de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriqués à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16). Plusieurs étalons ont été utilisés : β -sitostérol (a), acide oléique (b), γ -tocotriénol (c), trioléine (d), stéarate de cholestérol (e).

A partir des gammes d'étalonnage réalisées, les concentrations en stérols libres ($R_f = 0,15$), en acides gras libres ($R_f = 0,19 - 0,22$) et en γ -tocotriénol ($R_f = 0,30$) de chacun des extraits lipidiques ont été déterminées (Tableau 35). Les concentrations en stérols libres et

en acides gras libres sont respectivement calculées en équivalents de β -sitostérol et d'acide oléique (C18:1), utilisés comme étalons. Notons que quelque soit la fraction considérée, les extraits lipidiques issus de la gomme CA10CIP16 (B : GT1) présentent des concentrations plus importantes, pour les trois composés quantifiés. Les proportions de lipides dans l'extrait lipidique des deux fractions solubles sont plus faibles que pour les gommages brutes correspondantes. Ce résultat est en accord avec la présence probable de poly(*cis*-1,4-isoprène) dans les extraits lipidiques obtenus. Concernant les deux macrogels étudiés, de faibles concentrations d'acides gras libres ont été mesurées, et représentent moins de 0,01% de la masse du macrogel (Tableau 35). Les trop faibles concentrations en stérols libres des échantillons de macrogels n'ont pas pu être déterminées, dans nos conditions expérimentales.

Ainsi, ces travaux ont permis de confirmer les observations réalisées lors de l'analyse des différentes fractions par spectroscopie FT-IR. Les lipides sont très largement concentrés dans la fraction soluble du caoutchouc naturel. Les extraits lipidiques obtenus à partir des fractions de macrogel sont très faibles (0,5-0,6% m/m) et contiennent des quantités importantes de composés polaires co-extraits par le mélange chloroforme:méthanol (2:1 v/v). La part de lipides neutres extractibles dans ces échantillons de macrogel est donc très faible.

Tableau 35. Concentrations de quelques composés présents dans les extraits lipidiques des différentes fractions de deux échantillons de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriqués à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16).

| | Substances | R _f | Réf. | Proportion dans l'extrait lipidique (% m/m) | | | Proportion dans la fraction (mg / 100 g) | | |
|---------|-----------------------|----------------|------|--|-----------|-------------|---|----------|-------------|
| | | | | CN | FS | MG | CN | FS | MG |
| RRIM600 | Stérols libres | 0,15 | a | 15,6 (0,9) | 7,5 (1,2) | <i>n.d.</i> | 326 (31) | 415 (54) | <i>n.d.</i> |
| | Acides gras libres | 0,19 - 0,22 | b | 13,3 (0,5) | 5,9 (0,5) | 1,5 | 278 (18) | 326 (19) | 9 |
| | γ -tocotriénol | 0,30 | c | 1,5 (0,1) | 0,7 (0,0) | 0 | 31 (2) | 38 (2) | 0 |
| GT1 | Stérols libres | 0,15 | a | 20,2 (0,8) | 8,2 (0,4) | <i>n.d.</i> | 530 (13) | 429 (56) | <i>n.d.</i> |
| | Acides gras libres | 0,19 - 0,22 | b | 15,5 (0,5) | 6,0 (1,1) | 0,7 | 408 (5) | 312 (42) | 0,3 |
| | γ -tocotriénol | 0,30 | c | 2,3 (0,1) | 1,1 (0,2) | 0 | 61 (1) | 57 (6) | 0 |

- CN : Gomme brute de caoutchouc naturel ; FS : Fraction soluble ; MG : Macrogel.
- Réf. = Composés de référence : β -sitostérol (a), acide oléique (b), γ -tocotriénol (c).
- Les concentrations massiques calculées sont fournies en équivalents du composé de référence correspondant (a, b ou c).
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- *n.d.* : non déterminé, concentration inférieure à la limite de quantification.

Les deux macrogels sélectionnés dans cette étude sont parmi les moins concentrés en protéines (Tableau 33) et ont présenté un épaulement important en spectroscopie FT-IR au niveau de la bande d'élongation de la liaison carbonyle des groupements fonctionnels esters (1745 cm^{-1} ; Figure 71). Cet épaulement étant peu visible pour les macrogels les plus concentrés en protéines (Figure 70), il est probable que la part de lipides extractibles dans ces macrogels soit inférieure à celle des échantillons étudiés. Rappelons toutefois que cette étude ne concerne que les lipides extractibles présents dans les différentes fractions du caoutchouc naturel. Des lipides liés de façon covalente aux macromolécules de poly(*cis*-1,4-isoprène) ou intervenant dans la structure du macrogel pourraient ainsi ne pas être extraits. De plus, l'épaulement présent au niveau de la bande de vibration des groupements esters sur les spectres IR des macrogels, est retrouvé sur les spectres des macrogels ayant subi une extraction lipidique (Figure 74).

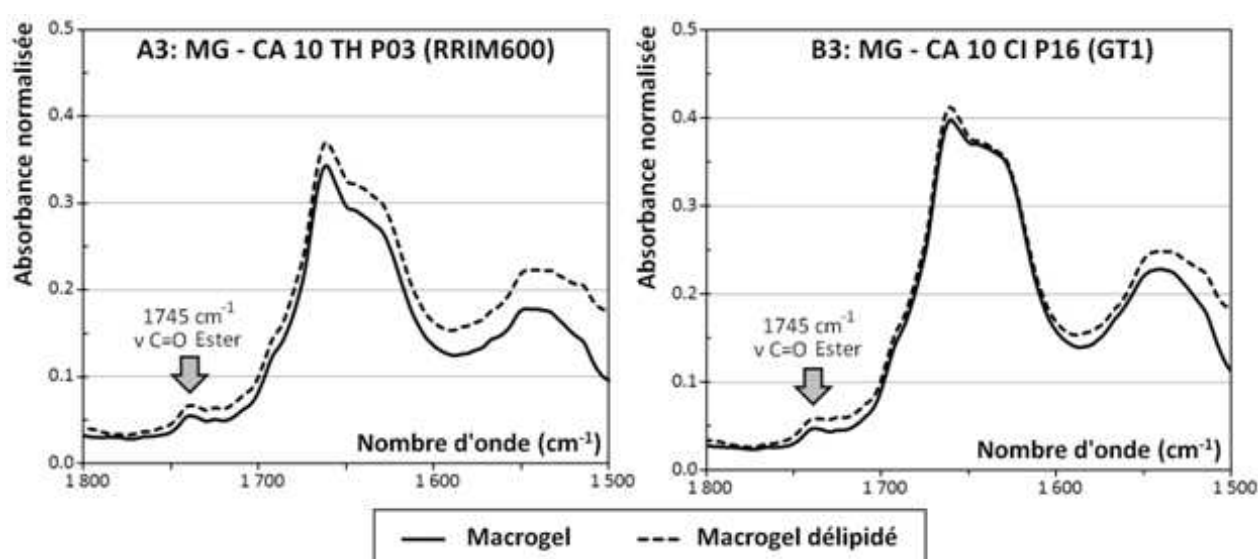


Figure 74. Spectres infrarouges normalisés par l'absorbance maximale de la bande à 840 cm^{-1} , de deux échantillons de macrogel issus des gommages CA10THP03 (A : RRIM600) et CA10CIP16 (B : GT1), avant et après extraction lipidique.

2.3.4. Répartition des éléments minéraux

Le caoutchouc naturel contient environ 0,2% (m/m) d'éléments minéraux tels que du phosphore (P), du potassium (K), du magnésium (Mg) et du calcium (Ca) ^[36]. Certains de ces éléments minéraux, sous la forme de cations divalents, sont notamment supposés jouer un rôle dans la structure du macrogel ^[81], et du microgel ^[82, 83] du caoutchouc naturel. Dans cette partie, certains éléments minéraux présents dans les différentes fractions de deux gommages de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16) ont d'abord été quantifiés par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS). La répartition de ces éléments minéraux a ensuite été

étudiée par microscopie électronique à balayage couplée à un spectromètre EDX (*Analyse dispersive en énergie*).

2.3.4.1. Analyses ICP-MS

Les concentrations de certains éléments minéraux présents dans les deux gomme brutes étudiées (A : CA10THP03 ; B : CA10CIP16) ont été mesurées par ICP-MS, après minéralisation des échantillons (Tableau 36). Le magnésium (^{24}Mg), le phosphore (^{31}P), le potassium (^{39}K), le calcium (^{44}Ca), le titane (^{48}Ti), le fer (^{56}Fe) et le zinc (^{64}Zn) ont été quantifiés en utilisant la cellule de collision en mode CCT1 (Gaz de collision : He/H_2 93%/7% ; flux : 4,5 mL/min). La cellule de collision a été utilisée en configuration CCT2 (Gaz de collision : O_2 ; flux : 0,05 mL/min) pour quantifier les espèces présentant un rapport masse sur charge (m/z) de 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ ou ^{48}Ti) et ainsi déterminer les concentrations de soufre présent dans ces échantillons ^[115].

Les deux échantillons renferment des concentrations importantes de ^{39}K (A : 89,6 mg/100g ; B : 65,8 mg/100g), de ^{31}P (A : 32,5 mg/100g ; B : 51,3 mg/100g) et de ^{24}Mg (A : 32,7 mg/100g ; B : 27,6 mg/100g). Les concentrations de ces trois éléments sont les plus importantes parmi les analytes considérés, en accord avec la littérature (Tableau 1) ^[36]. A l'exception du phosphore, il est intéressant de noter que la gomme fabriquée à partir de latex du clone RRIM600 (A : CA10THP03) présentent des concentrations plus importantes que la gomme issue du clone GT1 (B : CA10CIP16). Ces résultats pourraient traduire une influence clonale, déjà soulignée par Gopalakrishnan *et al.* ^[39]. Les deux gomme ont également présenté de faibles concentrations en ^{56}Fe (2,8-5,4 mg/100g), en ^{44}Ca (3,5-4,8 mg/100g) et en ^{64}Zn (1,0-2,1 mg/100g). Pour ces deux échantillons, des concentrations nulles en titane (^{48}Ti) ont été mesurées en mode CCT1, justifiant l'étude de cet analyte pour une quantification du soufre (^{32}S) en mode CCT2. Notons que le soufre (A: 33,6 mg/100g ; B: 26,6 mg/100g) fait partie des éléments minéraux les plus abondants.

La fraction soluble et le macrogel de chacune des deux gomme, ont également été caractérisés par ICP-MS (Tableau 36). Les concentrations en éléments minéraux sont très faibles dans les deux fractions solubles, par rapport à celles des gomme brutes correspondantes. Au contraire, les deux macrogels étudiés présentent les plus fortes concentrations de ^{24}Mg , ^{31}P , ^{44}Ca , ^{56}Fe , ^{64}Zn et ^{32}S . Ces éléments minéraux sont clairement concentrés dans le macrogel durant l'étape de centrifugation. Du titane a également été détecté (^{48}Ti : 0,1 mg/100g) dans les deux macrogels. Concernant le potassium (^{39}K), les concentrations les plus élevés ont été mesurées dans les gomme brutes, traduisant des pertes de matière évidentes durant les phases de lavage du macrogel (Figure 75). Notons que les deux macrogels ne présentent pas les mêmes compositions : les concentrations en ^{31}P , ^{32}S et ^{56}Fe du macrogel extrait à partir de la gomme B (CA10CIP16) sont par exemple plus importantes.

Tableau 36. Compositions minérales des différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16), étudiées par ICP-MS et MEB-EDX.

| | | <i>Concentrations en éléments minéraux (mg/100g)</i> | | | |
|------------------------------|----|--|----------------|----------------------|----------------|
| | | A : CA10THP03 | | B : CA10CIP16 | |
| | | <i>ICP-MS</i> | <i>MEB-EDX</i> | <i>ICP-MS</i> | <i>MEB-EDX</i> |
| Gomme brute (CN) | Na | | ND | | ND |
| | Mg | 32,7 (2,55) | ND | 27,6 (1,84) | ND |
| | Al | | 20 (30) | | ND |
| | P | 32,5 (15,8) | 90 (20) | 51,3 (4,25) | 60 (10) |
| | S | 33,6 (2,02) | ND | 26,6 (1,35) | ND |
| | Cl | | ND | | ND |
| | K | 89,6 (7,63) | 110 (10) | 65,8 (8,35) | 70 (10) |
| | Ca | 4,82 (0,73) | ND | 3,49 (0,76) | ND |
| | Ti | 0,00 (0,00) | ND | 0,00 (0,00) | ND |
| | Fe | 2,78 (0,09) | ND | 5,42 (0,48) | ND |
| | Zn | 1,04 (0,20) | ND | 2,07 (0,10) | ND |
| | | | | | |
| Fraction soluble (FS) | Na | | ND | | ND |
| | Mg | 4,82 (0,51) | ND | 6,24 (0,73) | ND |
| | Al | | ND | | ND |
| | P | 10,4 (0,53) | ND | 14,4 (1,16) | ND |
| | S | 9,12 (1,96) | ND | 11,5 (2,36) | ND |
| | Cl | | ND | | ND |
| | K | 14,0 (0,76) | ND | 17,7 (0,94) | ND |
| | Ca | 2,76 (1,23) | ND | 2,25 (0,45) | ND |
| | Ti | 0,00 (0,00) | ND | 0,00 (0,00) | ND |
| | Fe | 0,57 (0,14) | ND | 1,02 (0,85) | ND |
| | Zn | 0,84 (0,16) | ND | 1,09 (0,30) | ND |
| | | | | | |
| Macrogel (MG) | Na | | 70 (20) | | 220 (50) |
| | Mg | 60,3 (8,53) | 40 (0) | 50,8 (3,84) | 50 (10) |
| | Al | | ND | | ND |
| | P | 99,9 (25,3) | 110 (0) | 152 (30,1) | 230 (30) |
| | S | 51,8 (7,91) | 50 (10) | 129 (22,5) | 160 (20) |
| | Cl | | 30 (40) | | ND |
| | K | 66,4 (10,5) | 80 (10) | 28,0 (4,14) | ND |
| | Ca | 15,3 (1,76) | 20 (30) | 13,0 (1,06) | 20 (30) |
| | Ti | 0,11 (0,02) | ND | 0,11 (0,01) | ND |
| | Fe | 13,3 (1,32) | ND | 33,7 (3,20) | ND |
| | Zn | 4,71 (1,09) | ND | 3,51 (1,55) | ND |
| | | | | | |

- ND : non détecté.
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.

Les taux de macrogel récupérés après lavage sont respectivement de 25,7% et 14,0% (m/m) pour les gommes CA10THP03 (A) et CA10CIP16 (B). Ces valeurs ont été utilisées pour réaliser des bilans matière à partir des concentrations mesurées en ICP-MS. Les concentrations en éléments minéraux des fractions solubles et des macrogels ont ainsi été normalisées par les proportions de la fraction correspondante dans la gomme brute (Tableau 37). Ces concentrations normalisées ont permis d'estimer la quantité d'éléments minéraux éliminés durant les étapes de lavage de chaque macrogel. Les taux d'éléments minéraux

éliminés sont dépendants de l'échantillon mais aussi de l'analyte considéré. Tout d'abord, notons que des excès de matière ont été calculés pour les éléments minéraux les moins abondants. Par exemple, un excès de Zn de 76% est obtenu pour la gomme CA10THP03 (A), mais ne correspond finalement qu'à une différence de 0,8 mg/100g de gomme brute. Il est donc raisonnable de considérer des pertes de matières nulles pour les éléments minéraux pour lesquels des excès de matière ont été calculés. Toutefois, pour les deux gommes étudiées, des pertes importants de potassium (~ -70%) et de magnésium (A : -42% ; B : -55%) ont été calculées. La gomme issue du latex du clone RRIM600 (A : CA10THP03) a également présenté une perte importante de soufre (-40%). Pour la gomme CA10CIP16 (B), une perte significative de phosphore (-34%) a été mesurée. Il est intéressant de noter qu'à l'exception du soufre, les pertes de matière calculées sont plus faibles dans le cas de la gomme fabriquée à partir de latex du clone RRIM600 (A), qui présente le taux de macrogel le plus élevé.

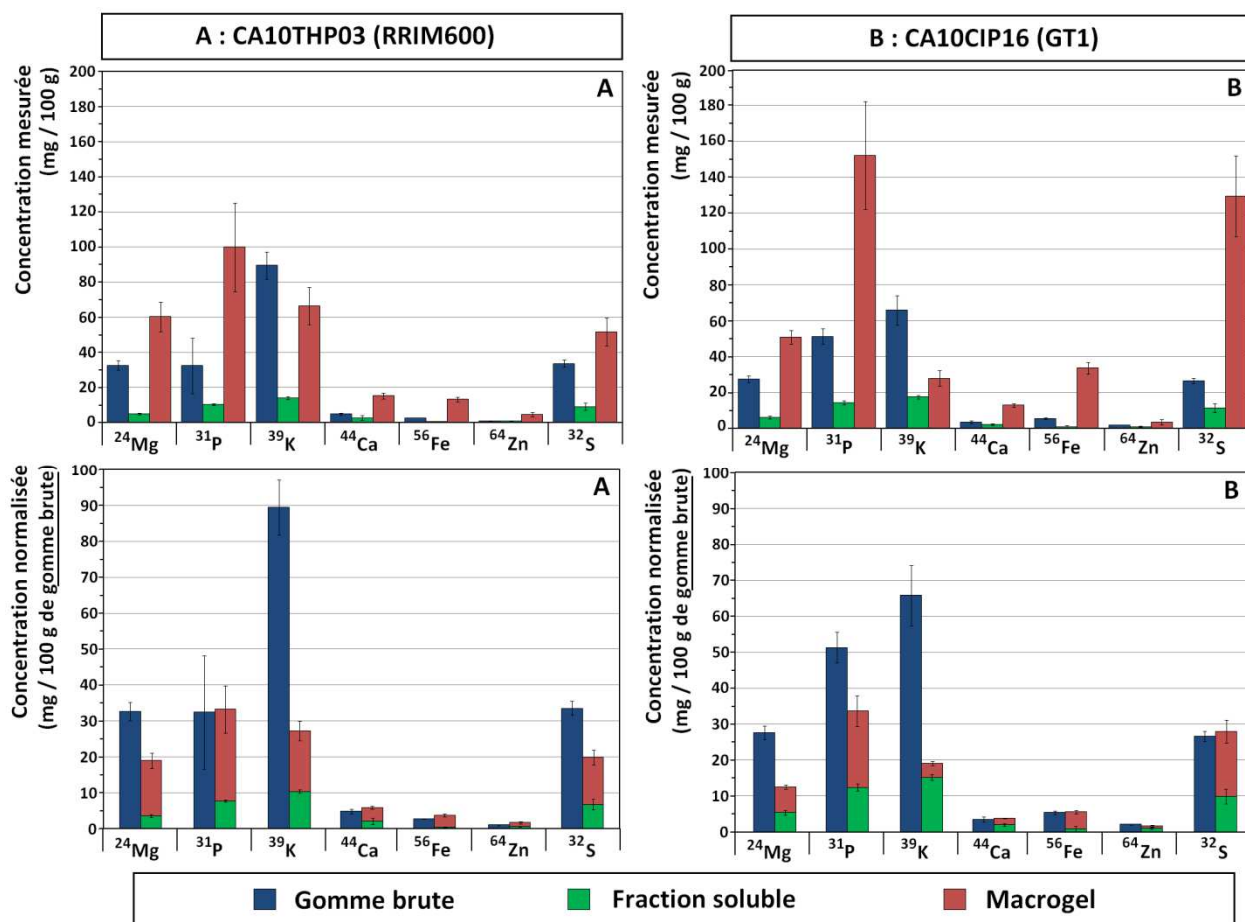


Figure 75. Concentrations en éléments minéraux mesurées et normalisées déterminées par ICP-MS, pour les différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, fabriquées à partir de latex des clones RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16). La normalisation des concentrations a été réalisée en prenant en compte les quantités de macrogel extraites après lavage.

Il est clair que les éléments minéraux éliminés durant les étapes de lavage ne structurent pas le macrogel. Les éléments minéraux restants pourraient être associés au macrogel et participer à sa structuration, ou simplement être piégés dans la matrice polyisoprénique. De la même façon, les éléments minéraux présents dans la fraction soluble pourraient être associés aux microaggrégats, constituant le microgel du caoutchouc naturel.

Tableau 37. Concentrations normalisées des éléments minéraux dosés par ICP-MS dans les différentes fractions de deux gommes de caoutchouc naturel de grade TSR10, respectivement fabriquées à partir de latex du clone RRIM600 (A : CA10THP03) et GT1 (B : CA10CIP16) ; et calculs des taux d'éléments minéraux éliminés lors des étapes de lavage du macrogel.

| | | <i>Concentrations normalisées (mg/100 g de gomme brute)</i> | | | | | | Bilans matière | | |
|----------------------|------------------|---|----------------------------------|--------|--------------------------|--------|--|-----------------------|-----------|--------------|
| | | Gomme brute (CN) | Fraction soluble (FS) | | Macrogel (MG) | | | FS | MG | Perte |
| A : CA10THP03 | ²⁴ Mg | 32,7 (2,55) | 3,58 | (0,38) | 15,5 | (2,19) | | 11% | 47% | -42% |
| | ³¹ P | 32,5 (15,8) | 7,76 | (0,40) | 25,7 | (6,50) | | 24% | 79% | 3% |
| | ³⁹ K | 89,6 (7,63) | 10,4 | (0,57) | 17,1 | (2,70) | | 12% | 19% | -69% |
| | ⁴⁴ Ca | 4,82 (0,73) | 2,05 | (0,91) | 3,92 | (0,45) | | 43% | 81% | 24% |
| | ⁵⁶ Fe | 2,78 (0,09) | 0,42 | (0,10) | 3,42 | (0,34) | | 15% | 123% | 38% |
| | ⁶⁴ Zn | 1,04 (0,20) | 0,62 | (0,12) | 1,21 | (0,28) | | 60% | 116% | 76% |
| | ³² S | 33,6 (2,02) | 6,77 | (1,46) | 13,3 | (2,03) | | 20% | 40% | -40% |
| B : CA10CIP16 | ²⁴ Mg | 27,6 (1,84) | 5,37 | (0,63) | 7,11 | (0,54) | | 19% | 26% | -55% |
| | ³¹ P | 51,3 (4,25) | 12,4 | (1,00) | 21,3 | (4,22) | | 24% | 42% | -34% |
| | ³⁹ K | 65,8 (8,35) | 15,2 | (0,81) | 3,93 | (0,58) | | 23% | 6% | -71% |
| | ⁴⁴ Ca | 3,49 (0,76) | 1,94 | (0,38) | 1,81 | (0,15) | | 56% | 52% | 7% |
| | ⁵⁶ Fe | 5,42 (0,48) | 0,88 | (0,73) | 4,71 | (0,45) | | 16% | 87% | 3% |
| | ⁶⁴ Zn | 2,07 (0,10) | 0,94 | (0,26) | 0,49 | (0,22) | | 45% | 24% | -31% |
| | ³² S | 26,6 (1,35) | 9,89 | (2,03) | 18,1 | (3,15) | | 37% | 68% | 5% |

- o Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- o Les bilans matière ont été réalisés à partir des quantités de macrogels récupérées lors de la séparation des différentes fractions (Figure 69). [FS(%) = 100 – MG (%)].

2.3.4.2. Caractérisation des surfaces par MEB-EDX

Des feuilles laminées, préparées à partir des différentes fractions des deux gommes sélectionnées, ont également été étudiées par MEB-EDX. L'analyse du faisceau d'électrons secondaires (mode SE) permet dans un premier temps de caractériser la topographie des échantillons. Les gommes brutes, leur fraction soluble et leur macrogel respectifs, ont ainsi présenté des rugosités équivalentes (Figure 76). Des analyses EDX ont permis d'estimer la composition moyenne de chaque échantillon (Tableau 36). Pour les deux gommes brutes, du phosphore (A : 90 mg/100 g ; B : 60 mg/100 g) et du potassium (A : 110 mg/100g ; B : 70 mg/100g) ont été détectés. De l'aluminium (20 mg/100g) a également été détecté dans la gomme brute fabriquée à partir de latex du clone RRIM600 (A, CA10THP03). Les autres

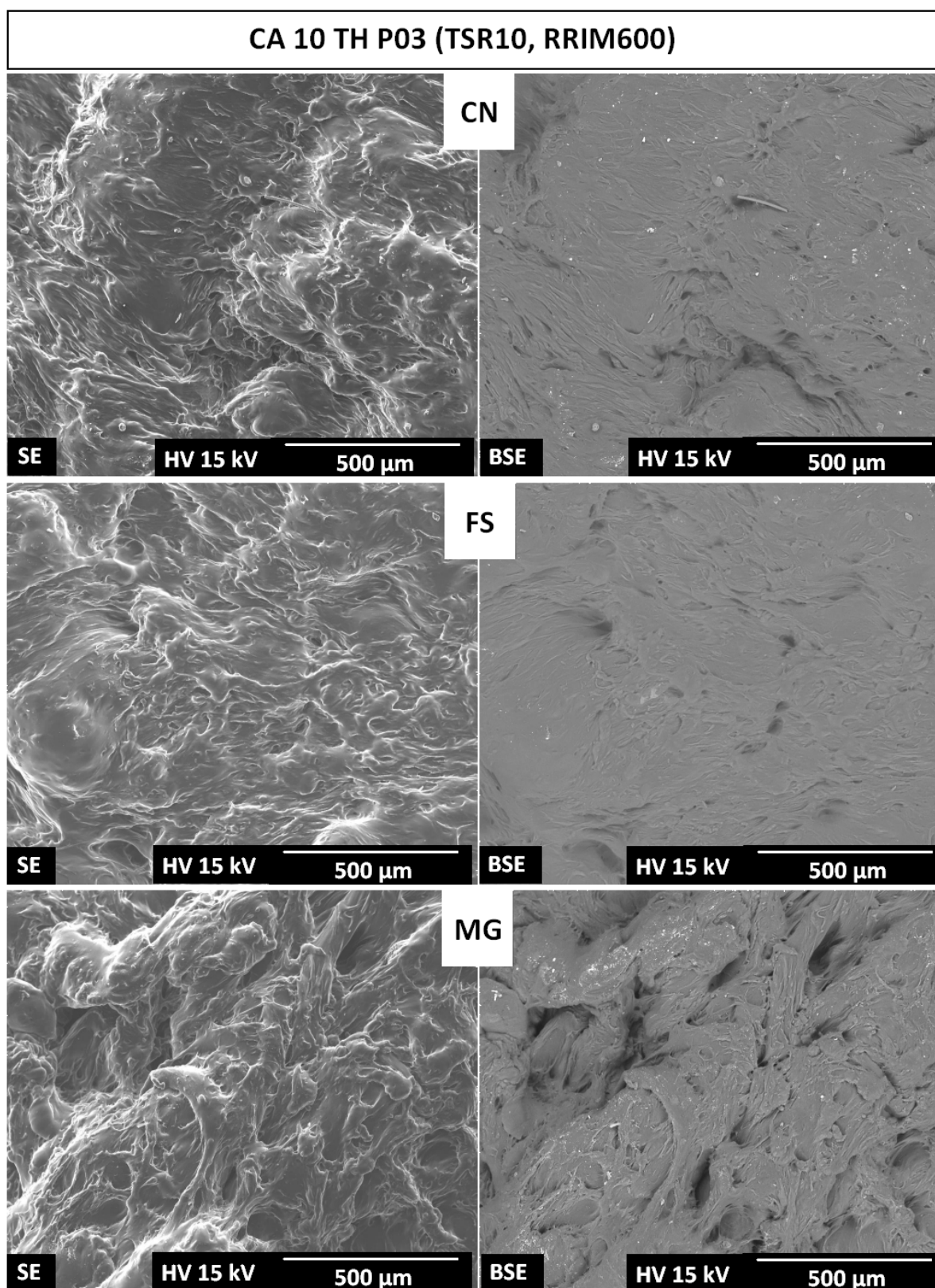


Figure 76. Surfaces de la gomme CA10THP03 (CN) ainsi que de la fraction soluble (FS) et du macrogel (MG) correspondants observés par microscopie électronique à balayage (MEB) en mode SE (électrons secondaires, *secondary electrons*) et BSE (électrons rétrodiffusés, *backscattered electrons*).

éléments minéraux présents dans la composition des deux gommés n'ont pas été détectés par MEB-EDX, traduisant des concentrations inférieures aux seuils de détection de la spectroscopie EDX. De la même façon, aucun élément minéral n'a pu être détecté dans les deux fractions solubles correspondantes (Tableau 36). Au contraire, les échantillons de macrogel ont montré la présence de sodium (Na), de magnésium (Mg), de phosphore (P), de soufre (S) et de calcium (Ca). Du chlore (Cl) et du potassium (K) ont également été détectés dans le macrogel de la gomme CA10THP03 (A). A l'exception du potassium, toutes les concentrations mesurées pour les échantillons de macrogel sont supérieures à celles mesurées pour les gommés brutes correspondantes. Ce résultat traduit une concentration des éléments minéraux dans le macrogel du caoutchouc naturel. Il est intéressant de noter que les concentrations mesurées par MEB-EDX sont corrélées à celles mesurées par ICP-MS ($R^2 = 0,86$, Figure 77). Les différences observées entre les résultats fournis par les deux méthodes peuvent être expliquées par les seuils de détection plus élevés de la spectroscopie EDX. Il est également important de préciser que les éléments légers sont difficilement quantifiables par EDX. Par exemple, l'azote représente 1,18% (m/m) du macrogel de la gomme CA10CIP16 (B), et n'est pas détecté par MEB-EDX. De plus, ces travaux ont été réalisés sur des surfaces non polies, afin d'éviter toute dégradation des échantillons.

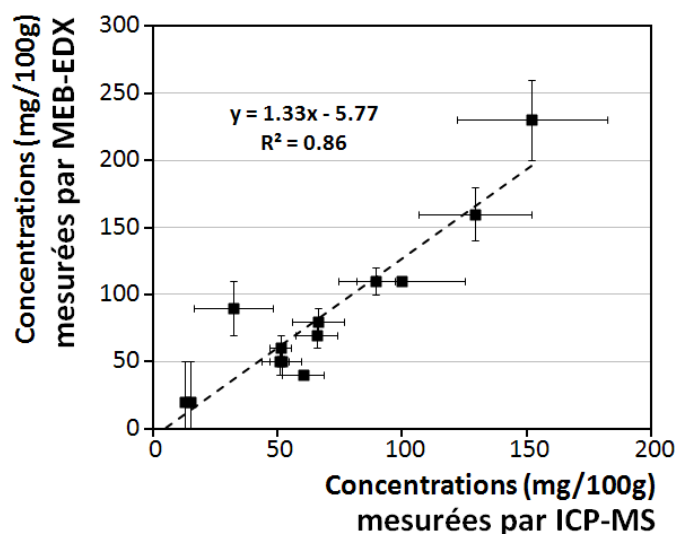


Figure 77. Corrélation observée entre les concentrations en éléments minéraux mesurées par MEB-EDX et ICP-MS.

Le faisceau d'électrons rétrodiffusés (mode BSE, *backscattered electrons*) a ensuite été utilisé afin d'étudier la répartition des éléments minéraux dans les différents échantillons. Les éléments chimiques lourds, avec des numéros atomiques élevés, rétrodiffusent les électrons incidents plus fortement que les éléments légers, et apparaissent ainsi plus clairs sur les images obtenues en MEB. Par conséquent, la matrice de poly(*cis*-1,4-isoprène) contenant essentiellement du carbone et de l'hydrogène apparaît en gris ; alors que les éléments plus lourds apparaissent en blanc (Figure 76). Des zones blanches, contenant les éléments minéraux, sont ainsi réparties de façon inhomogène sur la surface des gommés

brutes. La taille de ces zones blanches varie entre 15-25 μm pour les plus larges et 1-5 μm pour les plus petites. La quantité de zones blanches est fortement réduite dans les fractions solubles. Au contraire, ces zones minérales sont plus nombreuses dans les macrogels.

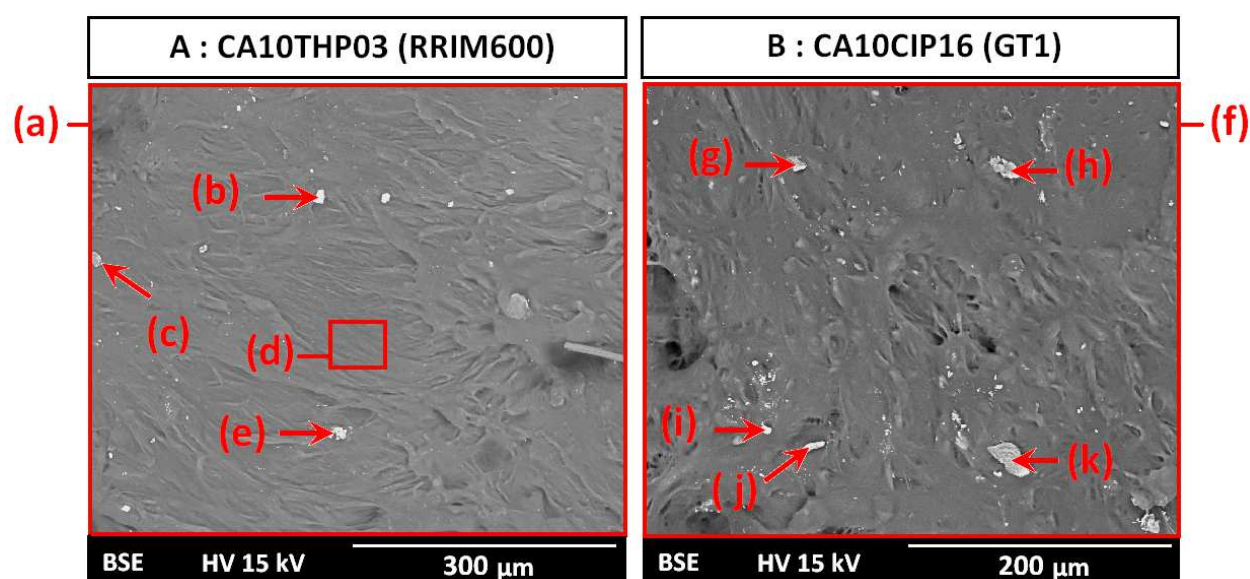


Figure 78. Observations MEB (mode BSE) de la surface des gommages CA10THP03 (A) et CA10CIP16 (B). La composition des zones (a) à (k) a été déterminée par microanalyse EDX (Tableau 38).

Tableau 38. Composition de différentes zones de la surface des gommages brutes CA10THP03 (A) et CA10CIP16 (B) caractérisées par MEB-EDX (Figure 78).

| | Composition minérale (% m/m) des zones (a) to (k) mesurée par MEB-EDX (Figure 78) | | | | | | | | | | |
|----|---|-------|-------|-------|-------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A : CA10THP03 | | | | | B : CA10CIP16 | | | | | |
| | (a) | (b) | (c) | (d) | (e) | (f) | (g) | (h) | (i) | (j) | (k) |
| C | 95,44 | 23,78 | 73,58 | 97,21 | 39,16 | 95,26 | 94,94 | 74,19 | 29,57 | 67,80 | 62,97 |
| N | - | - | 3,13 | - | - | - | 8,06 | 6,05 | - | - | 14,98 |
| O | 4,36 | 37,93 | 15,03 | 2,71 | 40,37 | 4,59 | 22,05 | 14,64 | 42,31 | - | 18,58 |
| F | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,24 | - | - |
| Na | - | - | 0,79 | - | 0,86 | - | 0,52 | 0,70 | - | - | 0,83 |
| Mg | - | - | - | - | 0,53 | - | 0,09 | 0,08 | 3,68 | - | 0,06 |
| Al | - | 1,04 | - | - | - | - | 0,18 | 0,08 | 3,71 | 0,12 | 0,10 |
| Si | - | - | 0,46 | - | - | - | 0,41 | 0,17 | 12,81 | 0,78 | 0,07 |
| P | 0,10 | - | - | - | 16,91 | 0,07 | 0,12 | - | - | - | 0,08 |
| S | - | - | 0,76 | - | 0,20 | - | 0,46 | 0,77 | - | 4,35 | 0,43 |
| Cl | - | - | 3,38 | - | 0,13 | - | 0,69 | 1,93 | - | 11,58 | 0,93 |
| K | 0,10 | - | 2,17 | 0,08 | 1,50 | 0,08 | 0,45 | 0,84 | 2,64 | 6,36 | 0,78 |
| Ca | - | 37,25 | 0,70 | - | 0,34 | - | 0,68 | 0,45 | 1,18 | 7,30 | 0,19 |
| Ti | - | - | - | - | - | - | 0,76 | 0,09 | 0,25 | 1,71 | - |
| Fe | - | - | - | - | - | - | 0,58 | - | 2,61 | - | - |

La composition des zones minérales présentes sur la surface des gommages brutes a été étudiée par spectroscopie EDX (Figure 78). De nombreux oxydes, tels que CaCO_3 (b), P_4O_{10} (e) et SiO_2 (i) ont été identifiés (Tableau 38). Des zones constituées de plusieurs oxydes (e.g. les zones g, h et k) ont pu être observées. Dans ces zones, des taux d'azote élevés (6-15%

m/m) ont été détectés et traduisent des concentrations locales en protéines très importantes. Du titane (Ti), du fer (Fe) et du fluor (F) ont été détectés dans certaines zones minérales de la gomme CA10CIP16 (B). Notons que des cristaux de KCl et de NaCl (c, g-k) ont également été observés. Des observations équivalentes (Tableau 39) ont été réalisées pour les échantillons de macrogel (Figure 79) et de fraction soluble (Figure 80) : de nombreux oxydes et des cristaux de NaCl et KCl ont été identifiés. Le macrogel de la gomme CA10THP03 (A) a par exemple montré des quantités importantes de ZnO (l-n, p-r), alors que des oxydes de fer ont été observés dans la fraction soluble correspondante.

Les zones blanches contenant des éléments minéraux, observées à partir du faisceau d'électrons rétrodiffusés (BSE) sont également visibles en mode SE (électrons secondaires), et correspondent à des agrégats présents à la surface des échantillons (Figure 79). Par exemple, des agrégats d'environ 5 μm (n, o ; Figure 79) ont été observés sur la surface du macrogel de la gomme CA10THP03 (A) et sont principalement composés de NaCl et de KCl (Tableau 39).

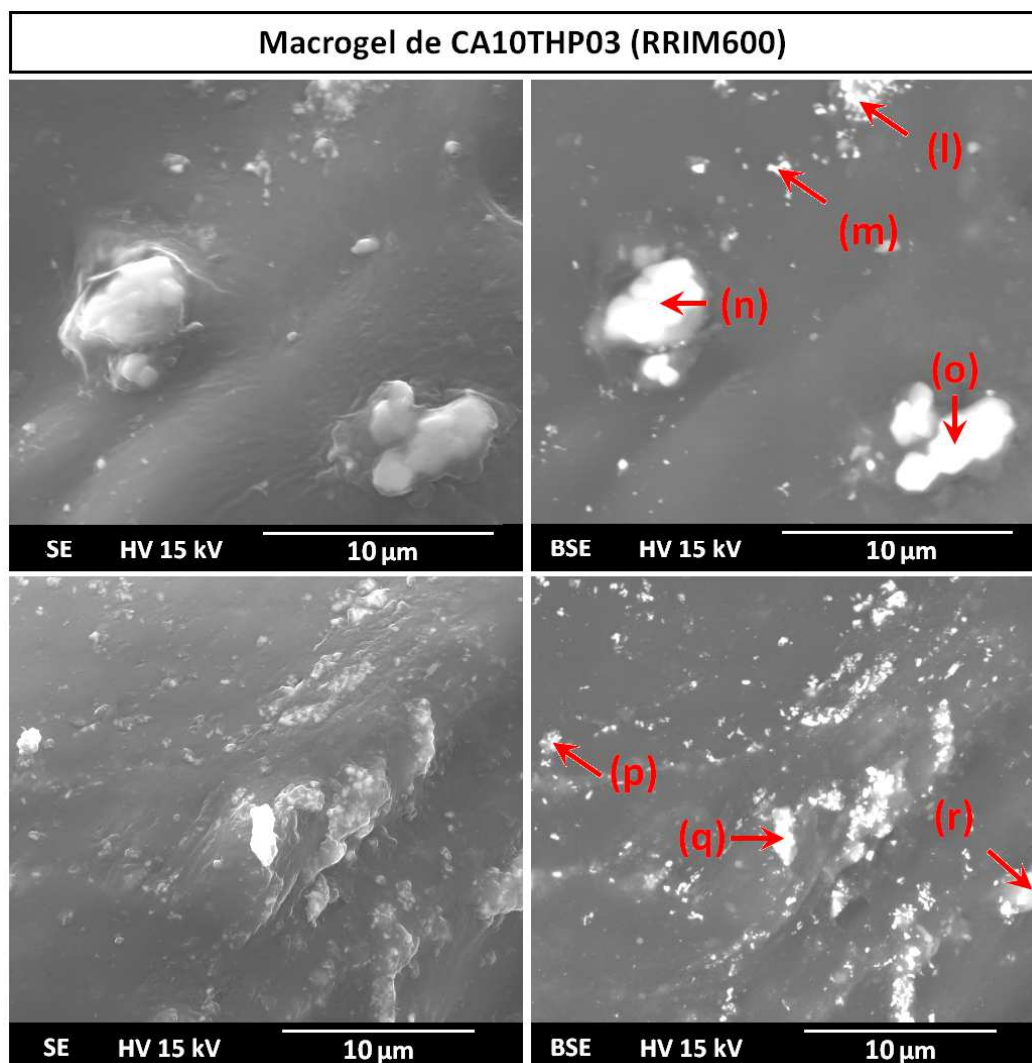


Figure 79. Observations MEB de la surface du macrogel de la gomme CA10THP03 (A). La composition des zones (l) à (r) a été déterminée par microanalyse EDX (Tableau 39).

Fraction soluble de CA10THP03 (RRIM600)

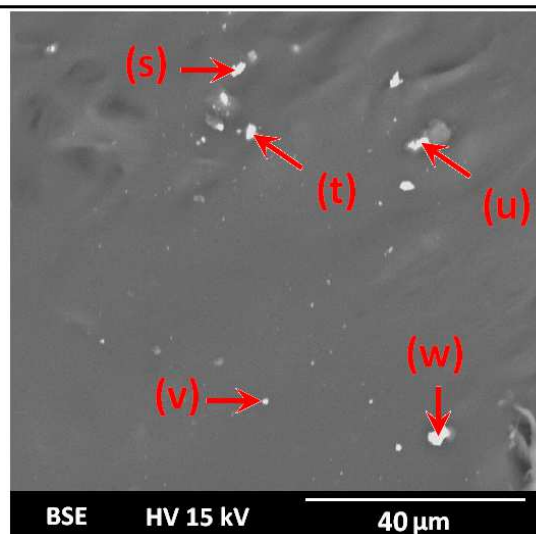


Figure 80. Observations MEB de la surface de la fraction soluble de la gomme CA10THP03 (A). La composition des zones (s) à (w) a été déterminée par microanalyse EDX (Tableau 39).

Tableau 39. Composition de différentes zones de la surface du macrogel (Figure 79) et de la fraction soluble (Figure 80) de la gomme CA10THP03 (A) caractérisées par MEB-EDX.

| | Composition minérale (% m/m) des zones (l) to (w) mesurée par MEB-EDX | | | | | | | | | | | |
|----|---|-------|-------|-------|-----------|-------|-------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
| | Macrogel de CA10THP03 | | | | | | Fraction soluble de CA10THP03 | | | | | |
| | Figure 79 | | | | Figure 79 | | | Figure 80 | | | | |
| | (l) | (m) | (n) | (o) | (p) | (q) | (r) | (s) | (t) | (u) | (v) | (w) |
| C | - | 79,95 | - | 68,22 | 79,38 | 65,96 | 64,68 | 61,09 | 57,49 | 86,84 | 72,72 | 31,06 |
| N | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| O | 25,02 | 9,41 | - | 3,12 | 10,58 | 15,37 | 11,56 | 25,75 | 30,08 | - | 18,27 | 45,23 |
| F | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,85 |
| Na | - | - | 21,35 | 6,43 | - | - | - | - | - | 0,81 | - | - |
| Mg | 0,76 | 0,09 | - | - | - | 0,11 | 0,15 | - | - | - | - | 0,20 |
| Al | - | - | - | - | 0,07 | - | 0,11 | - | - | - | - | - |
| Si | - | - | - | - | - | 0,07 | 0,16 | - | - | - | - | 0,12 |
| P | - | - | - | - | - | - | 0,11 | - | - | - | - | - |
| S | 1,01 | - | - | 0,10 | 0,09 | 0,08 | 0,09 | - | - | - | - | - |
| Cl | 3,24 | 0,18 | 53,14 | 15,00 | 0,60 | 0,95 | 4,84 | 0,30 | 0,23 | 6,38 | - | - |
| K | 2,29 | 0,12 | 23,37 | 7,14 | 0,30 | 0,29 | 1,10 | 0,24 | 0,25 | 5,96 | - | - |
| Ca | - | 0,10 | - | - | - | - | 0,30 | 0,20 | 11,73 | - | 9,01 | 22,54 |
| Ti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fe | - | - | - | - | - | - | - | 12,42 | - | - | - | - |
| Zn | 67,69 | 10,15 | 2,14 | - | 8,98 | 17,17 | 16,90 | - | 0,22 | - | - | - |

2.3.4.3. Discussions

Les analyses réalisées en MEB-EDX ont ainsi montré que les éléments minéraux sont distribués de façon inhomogène dans la matrice de poly(*cis*-1,4-isoprène), pour tous les échantillons considérés (Figure 76). Certains de ces éléments sont concentrés dans des

agrégats de tailles microniques. Les quantités d'agrégats d'origine minérale sont très élevées pour les deux macrogels. Au contraire, leur nombre est assez réduit dans les fractions solubles. La composition de ces agrégats est très variées (Tableaux 38, 39). Des cristaux de NaCl et de KCl ont notamment été observés. D'autres agrégats sont principalement composés d'oxydes de calcium (Ca), de phosphore (P), de silicium (Si) et de zinc (Zn). Des agrégats présentant des compositions plus complexes (mélanges de plusieurs oxydes) sont également présents, et peuvent contenir du magnésium (Mg), de l'aluminium (Al), du titane (Ti) et du fer (Fe).

Ces agrégats d'origine minérale sont initialement présents dans les gommages brutes étudiées (Figure 76). La plupart de ces agrégats sont probablement insolubles dans les solvants organiques, et sont concentrés dans la fraction insoluble durant l'étape de centrifugation (Tableau 36) ; ce qui expliquerait les concentrations très faibles mesurées dans les deux fractions solubles (Tableau 36). Les étapes de lavage du macrogel entraînent des pertes de matière importantes, pour certains de ces éléments minéraux (Tableau 37). Les pertes de matière les plus importantes ont été calculées pour les atomes de potassium (K). Les quantités importantes de cristaux de KCl observés sur les différentes surfaces (Figure 79), pourraient expliquer les pertes importantes de potassium, de par leur grande solubilité dans l'eau.

Des agrégats d'origine minérale sont également présents dans les deux fractions solubles étudiées (Figure 80). Sachant que le microgel peut représenter jusqu'à 30% de la masse du caoutchouc naturel ^[71, 76], il est clair que les microagrégats constituant le microgel ne sont pas uniquement composés d'éléments minéraux, qui représentent seulement 0,2% (m/m) du matériau ^[17, 18]. Cependant, les agrégats d'origine minérale observés dans les fractions solubles pourraient être associés au microgel du caoutchouc naturel ^[82, 83]. Rappelons que Rippel *et al.* ont montré que le calcium intervient dans la structuration du microgel ^[82]. Des oxydes de calcium sont présents dans la fraction soluble des gommages CA10THP03 (A, Figure 80) et CA10CIP16 (B).

Concernant les échantillons de macrogels étudiés, la distribution inhomogène des agrégats d'origine minérale (Figure 76) suggèrent que les liaisons ioniques faisant intervenir les cations métalliques divalents, n'ont pas de rôle majeur dans la structure du macrogel. Le fond gris observé à partir du signal BSE et les microanalyses EDX ont montré que le macrogel est principalement composé de carbone et d'oxygène. Sachant que les atomes d'azote sont difficilement détectés en spectroscopie EDX, il n'est pas possible de conclure quant à la répartition des protéines dans le macrogel.

Certains des éléments minéraux présents dans les échantillons étudiés sont naturellement présents dans le latex d'*Hevea brasiliensis* (Tableau 1) et sont ainsi retrouvés dans les gommages de caoutchouc naturel après la première transformation. Toutefois, les

analyses réalisées en MEB-EDX ont montré la présence de cristaux de chlore (NaCl, KCl) mais également de sable (SiO₂) dans les deux gommes brutes étudiées (Figure 78). La présence de chlore et de silicium qui n'a jamais été reportée dans le latex d'*Hevea brasiliensis*, pourrait refléter de probables pollutions. Par exemple, du sable pourrait se déposer dans les tasses de saignée durant les étapes de coagulation et de maturation du latex. L'eau utilisée dans les étapes de lavages des coagulum pourraient également contenir certains éléments minéraux comme du chlore.

2.3.5. Conclusions : Répartition des composés non-isoprènes

Ces travaux de thèse ont ainsi permis d'étudier la répartition de trois classes de composés non-isoprènes dans les différentes fractions du caoutchouc naturel. Tout d'abord, les protéines qui sont concentrées dans la fraction insoluble, représenteraient entre 4,6% et 50,8% de la masse des onze macrogels étudiés. Les protéines seraient donc clairement les composés non-isoprènes majoritaires du macrogel, et pourraient jouer un rôle important dans sa structure. Rappelons en effet que les protéines quantifiées dans ces échantillons n'ont pas été éliminées durant les différentes étapes de lavage, et sont supposées intervenir dans la structure du macrogel.

Les éléments minéraux sont également concentrés dans le macrogel du caoutchouc naturel. L'étude en MEB-EDX a permis de mettre en évidence que certains de ces éléments minéraux sont présents sous la forme d'agrégats de tailles microniques, répartis de façon inhomogène dans la matrice polyisoprène. Toutefois, la résolution de la technique ne permet pas de conclure quant au rôle de ces éléments minéraux dans la structure du macrogel. Des informations supplémentaires pourraient être apportées par TEM-EDX par exemple.

Enfin, nos travaux ont montré que la part de lipides extractibles représentait moins de 0,5% de la masse du macrogel. Toutefois, des espèces non-extractibles composés d'un groupement fonctionnel ester, pourraient entrer dans la composition du macrogel. Ces espèces pourraient être étudiées, après méthanolyse d'un macrogel par réaction avec du méthanolate de sodium ^[13, 70]. Durant cette thèse, des travaux ont été entrepris afin de développer un protocole de transestérification de solutions de caoutchouc naturel préparées dans du THF stabilisé. Toutefois, ces essais ont montré que la transestérification était accompagnée d'une oxydation importante des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) et n'ont pas permis d'obtenir des résultats interprétables.

2.4. Caractérisation structurale par spectroscopie RMN du solide

La spectroscopie RMN en solution, utilisée par Tanaka *et al.* ^[13] pour caractériser les groupements terminaux de chaînes courtes de poly(*cis*-1,4-isoprène) d'*Hevea brasiliensis*, nécessite une mise en solution préalable, et donc une déstructuration du matériau. De plus,

seule la fraction soluble du caoutchouc naturel est alors considérée. La RMN du solide permet d'éviter la déstructuration du caoutchouc naturel. Plusieurs méthodes de caractérisation par RMN du solide ont été développées par l'université du Maine (Le Mans), dans le cadre du projet CANAOPT, afin d'étudier la structure des échantillons de caoutchouc naturel brut non fractionné. Dans ces travaux de thèse, l'utilisation de quelques unes de ces méthodes a été envisagée afin de caractériser les différentes fractions d'une sélection de gommes.

2.4.1. Spectres RMN du caoutchouc naturel

La figure 81 présente le spectre RMN ^1H d'une gomme de caoutchouc naturel de grade TSR3CV, fabriquée à partir de latex du clone GT1 (CA3CVVNP03). Pour cet échantillon, seuls trois signaux sont résolus à des déplacements chimiques différents : 1,5 ppm ($-\text{CH}_3$, H5), 2,1 ppm ($-\text{CH}_2-$, H1 + H4) et 5,1 ppm ($=\text{CH}-$, H3) et ont été attribués aux atomes d'hydrogène présents sur le monomère *cis*-1,4-isoprène (Figure 82, Tableau 40). La très forte proportion de poly(*cis*-1,4-isoprène) présente dans le caoutchouc naturel ne permet pas d'identifier de signaux caractéristiques des composés non-isoprènes, dans nos conditions expérimentales.

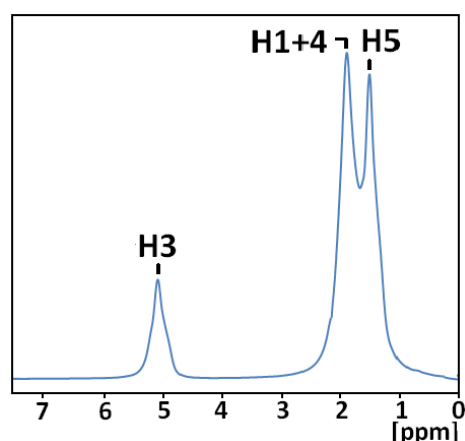


Figure 81. Spectre RMN ^1H de la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1).

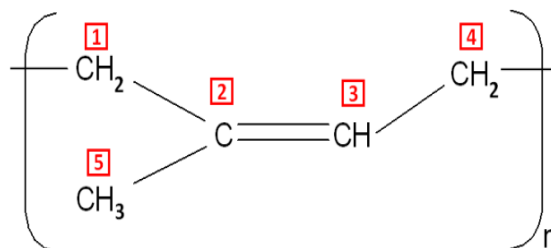


Figure 82. Nomenclature utilisée pour l'attribution des signaux en spectroscopie RMN.

Tableau 40. Attribution des signaux mesurés en spectroscopies RMN ^1H (Figure 81) et ^{13}C (Figure 83).

| | $\delta(\text{ppm})$ | Attribution | Références |
|---------------------|----------------------|----------------------------------|------------|
| RMN ^1H | 1,5 | H5 | [130-133] |
| | 2,1 | H1 + H4 | [130-133] |
| | 5,1 | H3 | [130-133] |
| RMN ^{13}C | 24 | C5 | [130-134] |
| | 27-28 | C4 | [130-134] |
| | 33 | C1 | [130-134] |
| | 52 | $-\text{C}_\alpha\text{-CO-NH-}$ | |
| | 125 | C3 | [130-134] |
| | 136 | C2 | [130-134] |
| | 172 | $-\text{CO-NH-}$ | |

L'analyse par spectroscopie RMN ^{13}C en polarisation croisée (CP : $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$) réalisée à l'angle magique (MAS) d'une gomme de caoutchouc naturel permet de mettre en évidence plusieurs signaux attribuables aux atomes de carbone du poly(*cis*-1,4-isoprène) mais également à certains composés non-isoprènes (Figure 83). Cinq pics présentant des déplacements chimiques de 24 ppm ($-\text{CH}_3$, C5), 27 ppm ($-\text{CH}_2-$, C4), 33 ppm ($-\text{CH}_2-$, C1), 125 ppm ($=\text{CH-}$, C3) et 136 ppm ($-\text{C}(\text{CH}_3)=$; C2) correspondent notamment aux cinq atomes de carbone présents sur le monomère *cis*-1,4-isoprène (Tableau 40). Le signal observable à 172 ppm correspond à des atomes de carbone de groupements fonctionnels carbonyles (C=O). Rappelons que les groupements fonctionnels carbonyles du caoutchouc naturel sont essentiellement présents sur certains lipides (esters, acides gras libres) mais également sur les liaisons peptidiques des protéines et polypeptides. Dans le cadre du projet CANAOPT, l'équipe de l'Université du Maine (IMMM) a mis en évidence une corrélation entre l'intensité maximale du signal à 172 ppm (C=O) et le taux d'azote des gommages de caoutchouc naturel. Dans ce travail de thèse, nous avons donc fait l'hypothèse que ce dernier pic était essentiellement attribuable aux atomes de carbone présents sur les liaisons peptidiques ($-(\text{C=O})\text{-NH-}$). Notons toutefois qu'une contribution de certains lipides du caoutchouc naturel ne peut pas être exclue, actuellement ^[135, 136]. Un pic large et peu intense est également présent à 52 ppm (Figure 83). L'Université du Maine a également établi une corrélation entre les intensités maximales des signaux mesurés à 172 ppm ($-(\text{C=O})\text{-NH-}$) et à 52 ppm. Simplement, une augmentation du pic à 172 ppm est accompagnée d'une augmentation proportionnelle du pic à 52 ppm. Ces résultats permettent de proposer une attribution à ce dernier signal, qui pourrait correspondre à des atomes de carbone en position α de la liaison peptidique présente sur les protéines et polypeptides du caoutchouc naturel ($-\text{C}_\alpha\text{-(C=O)-NH-}$; Tableau 40). L'utilisation de l'intensité maximale du pic à 172 ppm, mesurée par RMN ^{13}C CP-MAS, et normalisée par la quantité de matière introduite dans le rotor (cellule de mesure en rotation), a donc été utilisée comme un indicateur de la concentration en protéines et polypeptides des échantillons analysés dans ces travaux de thèse. Enfin, les signaux marqués

d'un astérisque (Figure 83) sont des bandes de rotation (harmoniques) des pics présents à 125 ppm ($=\text{CH}-$, C3) et 136 ppm ($-\text{C}(\text{CH}_3)=$; C2).

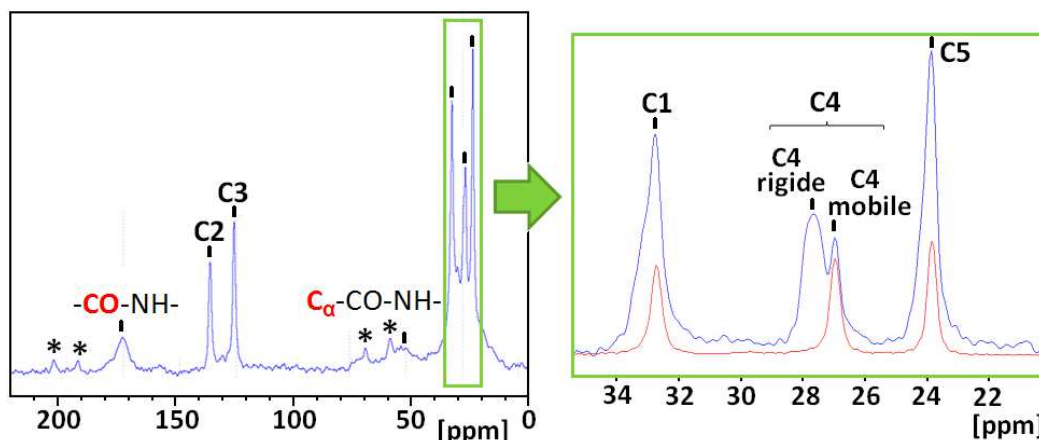


Figure 83. Spectres RMN ^{13}C (excitation directe ; rouge) et ^{13}C CP-MAS (polarisation croisée ; bleu) d'un échantillon de caoutchouc naturel du projet CANAOPT.

Des différences peuvent être observées entre les spectres RMN ^{13}C mesurés en excitation directe et en polarisation croisée (Figure 83). Les pics correspondant aux carbones du poly(*cis*-1,4-isoprène) sont en effet plus larges et plus intenses en polarisation croisée. Ce phénomène traduit la présence de régions cristallines dites immobiles^[134] ou rigides, dont la contribution ne peut être étudiée qu'à partir de spectres RMN ^{13}C CP-MAS. En effet, tandis que le spectre d'excitation directe est quantitatif, l'efficacité de la polarisation croisée dépend de la mobilité des molécules ou groupements. Les signaux correspondant aux régions rigides sont sélectivement augmentés par rapport aux régions mobiles. La comparaison des spectres acquis en excitation directe et en polarisation croisée, permet donc de mettre en avant la présence de contributions mobiles et immobiles pour chacun des cinq atomes de carbone des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) du caoutchouc naturel. Parmi ces cinq atomes, le carbone numéroté C4 ($\delta = 27$ ppm ; $-\text{CH}_2-$) est intéressant de par la différenciation nette entre ses contributions mobiles (27 ppm) et immobiles (28 ppm). Récemment, Leblanc *et al.*^[132] ont utilisé l'intensité maximale du pic correspondant à la contribution immobile du carbone C4 (28 ppm), appelé « C4 rigide », pour caractériser la structure d'échantillons de caoutchouc naturel. Les auteurs ont ainsi fait l'hypothèse que l'intensité maximale du pic du C4 rigide était proportionnelle au degré de structuration du matériau. Dans ces travaux de thèse, nous nous sommes donc intéressés à la valeur du C4 rigide mesurée pour plusieurs échantillons de caoutchouc naturel, et pour leurs fractions solubles et macrogels respectifs. En se basant sur les hypothèses formulées par Leblanc *et al.*^[132], l'intensité maximale du C4 rigide normalisée par la quantité de matière introduite dans le rotor, devrait permettre de mettre en évidence le degré de réticulation supérieur d'échantillons de macrogel ; mais également de différencier des macrogels extraits à partir de gommages différentes.

En complément des informations apportées par la valeur du pic du C4 rigide (28 ppm), les temps de relaxation T1 des différents noyaux, mesurés en excitation directe, peuvent permettre de caractériser la mobilité des atomes étudiés. Ces temps de relaxation correspondent à la durée nécessaire pour qu'un noyau excité par l'application d'une irradiation radiofréquence revienne dans sa position d'équilibre. Simplement, un noyau relativement mobile présentera un temps de relaxation important. Inversement, un noyau contraint présentera un temps de relaxation plus court. Dans ces travaux, les temps de relaxation T1 des atomes de carbone et d'hydrogène des chaînes de poly(*cis*-1,4-isoprène) ont donc été étudiés, afin de caractériser la mobilité moyenne des échantillons.

2.4.2. Influence de la mise en forme de l'échantillon

Des travaux préliminaires ont permis d'étudier l'influence de la mise en forme de l'échantillon sur les valeurs de temps de relaxation T1 mesurées par RMN ^1H et ^{13}C , et sur les intensités maximales normalisées des signaux à 172 ppm ($-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-$) et à 28 ppm (C4 rigide) mesurées par RMN ^{13}C CP-MAS. La gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) a été sélectionnée pour cette étude (Figure 84). Trois prises d'essais ont été réalisées sur une balle de cet échantillon. Ces trois prises d'essais ont ensuite été homogénéisées et laminées sur un mélangeur à cylindres, selon les normes ISO 1795 et ISO 2393. Pour chacune des prises d'essais, des mesures en spectroscopie RMN ont été réalisées sur la gomme brute avant homogénéisation, après homogénéisation et enfin après laminage, moins d'une semaine après la mise en forme.

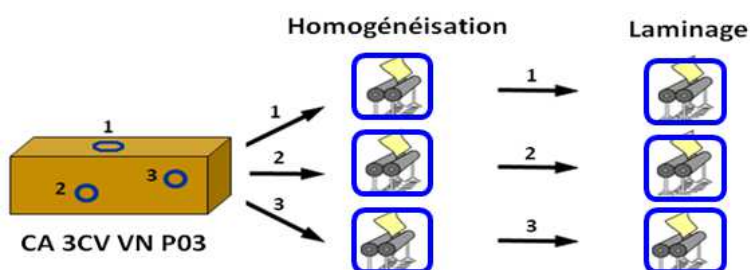


Figure 84. Protocole mis en place pour étudier l'influence de l'homogénéisation sur les résultats RMN.

Concernant d'abord les signaux correspondants à la teneur en protéines ($\delta = 172$ ppm, $-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-$), et à la contribution immobile du noyau C4 ($\delta = 28$ ppm, C4 rigide), il est intéressant de noter que les étapes d'homogénéisation et de laminage n'entraînent pas d'évolution significative des intensités maximales normalisées correspondantes (Tableau 41). Au contraire, l'utilisation du mélangeur à cylindres permet de réduire la dispersion des résultats sur la mesure de l'intensité maximale normalisée du C4 rigide. En effet, le coefficient de variation mesuré pour ce paramètre est proche de 40% dans le cas de la gomme brute, i.e. non-homogénéisée. La dispersion est réduite à 9-12% pour les échantillons homogénéisés et laminés. Ce phénomène n'est pas visible concernant le pic

mesuré à 172 ppm ($-(C=O)-NH-$), pour lequel une dispersion relativement faible (4-14%) a été enregistrée. L'utilisation du mélangeur à cylindres pour homogénéiser des échantillons de caoutchouc naturel semble ainsi impacter davantage les régions dites immobiles.

Tableau 41. Intensités maximales normalisées obtenues par spectroscopie RMN pour la gomme CA3CVVNP03 (TSR3CV, GT1) avant et après mise en forme (Figure 84).

| CA 3CV VN P03 | Gomme brute | Après homogénéisation | Après laminage |
|----------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| CO (172 ppm) * | $4,4 \times 10^3$ (5%) a | $4,9 \times 10^3$ (14%) a | $4,6 \times 10^3$ (4%) a |
| C4 rigide * | $2,7 \times 10^5$ (39%) a | $2,3 \times 10^5$ (12%) a | $3,1 \times 10^5$ (9%) a |
| T1 H1+4 (ms) | 443,9 (3%) a | 449,8 (1%) a | 453,3 (2%) a |
| T1 H3 (ms) | 479,3 (3%) a | 483,0 (1%) a | 489,5 (2%) a |
| T1 H5 (ms) | 473,9 (3%) a | 477,7 (1%) a | 483,2 (2%) a |
| T1 C1 (ms) | 139,8 (4%) a | 140,1 (2%) a | 138,0 (3%) a |
| T1 C2 (ms) | 891,5 (1%) a | 890,3 (3%) a | 884,2 (1%) a |
| T1 C3 (ms) | 196,0 (2%) a | 194,2 (2%) a | 192,5 (3%) a |
| T1 C4 (ms) | 133,7 (3%) a | 135,8 (2%) a | 137,0 (0%) a |
| T1 C5 (ms) | 698,5 (1%) a | 699,6 (1%) a | 708,1 (1%) a |

- Les intensités maximales (en unités relatives) des signaux CO et C4 rigide (*) ont été normalisées par la quantité de matière introduites dans le rotor de mesure.
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Les temps de relaxation T1 des différents noyaux considérés ne sont quant à eux pas impactés par la mise en forme de l'échantillon (Tableau 41) : aucune évolution des valeurs moyennes et de la dispersion des résultats, n'est observée lors de l'homogénéisation des échantillons. Il est intéressant de noter que chacun des noyaux considérés présentent des temps de relaxation différents. Il est toutefois difficile de comparer directement les temps de relaxation mesurés pour les différents noyaux d'un même échantillon, qui dépendent fortement de l'environnement chimique de chaque atome. Par exemple, le carbone C2 qui est probablement le moins mobile des carbones du poly(*cis*-1,4-isoprène) présente le temps de relaxation T1 le plus important, de par l'absence d'atome d'hydrogène pouvant induire un couplage dipolaire. Ainsi, seuls les temps de relaxation enregistrés pour un même signal, sur des échantillons différents, peuvent être comparés afin de caractériser la mobilité moyenne de l'échantillon.

Ainsi, cette première étude a permis de sélectionner une méthode de préparation des échantillons avant toute caractérisation par RMN du solide. Dans la suite de ces travaux de thèse, les échantillons de caoutchouc naturel étudiés et leurs fractions respectives ont tous été homogénéisés et laminés avant d'être caractérisés, afin de diminuer la dispersion des mesures de l'intensité maximale normalisée du C4 rigide ($\delta = 28$ ppm).

2.4.3. Caractérisation des différentes fractions de trois gommés

Les méthodes de caractérisation par RMN du solide développées par l'Université du Maine ont été utilisées pour étudier trois gommés de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT, ainsi que les fractions solubles et les macrogels correspondants. Les gommés CA3CVVNP03 (TSR3CV), CA10CVCIP03 (TSR10CV) et CA10CIP16 (TSR10) sélectionnées sont toutes issues du latex du clone GT1. Leurs macrogels présentent respectivement des taux d'azote de 8,12%, 4,39% et 1,18% (m/m). Des mesures RMN ont été réalisées sur chacun des échantillons, après homogénéisation et laminage selon les normes ISO 1795 et ISO 2393.

Tableau 42. Résultats obtenus par spectroscopie RMN pour trois gommés de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT, ainsi que pour leur fraction soluble et leur macrogel respectifs.

| | | CO (172 ppm) Intensité maximale normalisée ($\times 10^{-3}$) | C4 rigide Intensité maximale normalisée ($\times 10^{-5}$) | T1 C4 (ms) |
|---|----|---|--|--------------|
| CA3CVVNP03 TSR3CV GT1 (MG = 1,6%) | CN | 4,6 (4%) d | 3,1 (9%) a | 137,0 (0%) a |
| | FS | 1,1 (17%) f | 2,2 (23%) a,b | 135,1 (4%) a |
| | MG | 63 (1%) a | 1,2 (11%) b | 138,9 (7%) a |
| CA10CVCIP03 TSR10CV GT1 (MG = 2,1 %) | CN | 3,9 (11%) d | 2,0 (10%) b | 130,8 (1%) a |
| | FS | 2,2 (42%) e,f | 1,7 (42%) b | 133,0 (2%) a |
| | MG | 13 (3%) b | 0,8 (11%) c,d | 131,0 (1%) a |
| CA10CIP16 TSR10 GT1 (MG = 14 %) | CN | 3,2 (4%) d,e | 3,0 (6%) a | 135,9 (2%) a |
| | FS | 1,4 (38%) f | 0,3 (5%) d | 134,5 (0%) a |
| | MG | 6,8 (10%) c | 1,5 (1%) b,c | 135,4 (1%) a |

- CN : Gomme brute ; FS : Fraction soluble ; MG : Macrogel.
- Les intensités maximales (en unités relatives) des signaux CO et C4 rigide ont été normalisées par la quantité de matière introduite dans le rotor de mesure.
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Le tableau 42 présente les résultats obtenus pour la gomme brute (CN), la fraction soluble (FS) et le macrogel (MG) de chacune des trois gommés sélectionnées. Concernant le pic à 172 ppm ($-(C=O)-NH-$) observé sur les spectres RMN ^{13}C CP-MAS, notons que les intensités maximales normalisées enregistrées pour les échantillons de macrogel, sont toujours plus importantes que celles mesurées pour les gommés brutes. Inversement, l'intensité du pic correspondant est très faible dans la fraction soluble des trois gommés (Figure 85). Ces résultats mettent en avant une concentration des protéines dans le macrogel du caoutchouc naturel, et viennent ainsi confirmer nos précédents résultats. Le classement des macrogels réalisés selon leur taux d'azote respectif est également conservé : l'intensité maximale normalisée du pic à 172 ppm est plus importante dans le cas du macrogel de la gomme de grade TSR3CV (N : 8,12% m/m). Le macrogel de la gomme TSR10, qui possède un taux d'azote relativement faible (N : 1,18% m/m), présente le pic le moins intense.

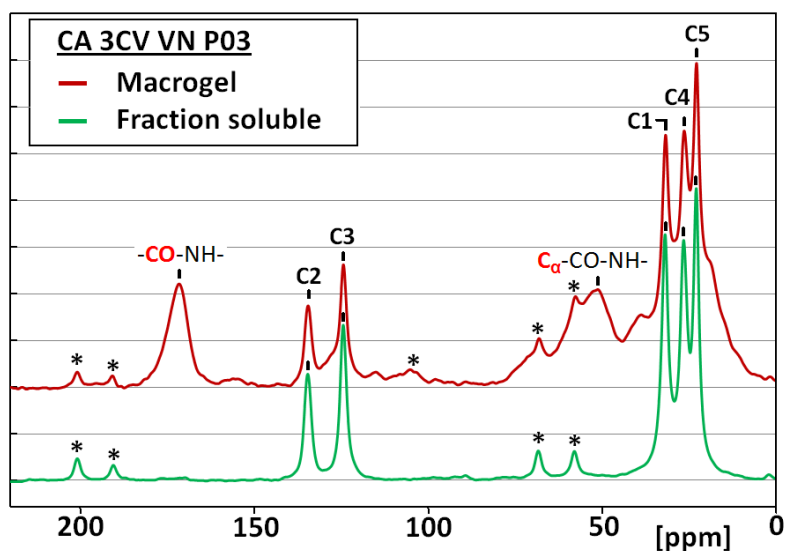


Figure 85. Spectres RMN ^{13}C CP-MAS mesurés pour le macrogel et la fraction soluble de la gomme CA3CVVN03 (TSR3CV, GT1).

Dans cette étude, l'intensité maximale du pic du C4 rigide (28 ppm) a été mesurée pour l'ensemble des fractions des trois gommes sélectionnées (Tableau 42), afin de caractériser le degré de structuration des différents échantillons ^[132]. Les échantillons de macrogel ont tous présentés des valeurs de C4 rigide inférieures à celles enregistrées pour les gommes brutes correspondantes. Pour deux échantillons (TSR3CV et TSR10CV), la fraction soluble présente même des valeurs de C4 rigide supérieures à celles du macrogel correspondant. Rappelons que pour ces trois macrogels, les proportions massiques de protéines, déterminées à partir des taux d'azote, sont de 50,8% (CA3CVVN03), 27,4% (CA10CVCIP03) et 7,4% (CA10CIP16). Une seconde normalisation des intensités maximales du C4 rigide, prenant en compte les quantités réelles de poly(*cis*-1,4-isoprène) dans le rotor, peut ainsi être réalisée. Les nouvelles intensités maximales normalisées du C4 rigide des trois macrogels sont alors de $3,6 \times 10^5$ (CA3CVVN03), $1,1 \times 10^5$ (CA10CVCIP03) et $1,6 \times 10^5$ (CA10CIP16). Avec ces nouvelles valeurs, seul le macrogel de la gomme CA3CVVN03 présente une rigidité supérieure à celles de la gomme brute et de la fraction soluble correspondante. Les deux autres macrogels présentent des signaux C4 rigides moins intenses que les gommes dont ils sont issus. Selon l'hypothèse de Leblanc *et al.* ^[132], ces résultats tendraient à montrer que le macrogel serait moins structuré que le caoutchouc naturel brut, et moins structuré que la fraction soluble correspondante dans certains cas. Ces résultats sont donc en désaccord avec le reste de la littérature. Ainsi, la valeur de C4 rigide considérée comme proportionnelle au degré de structuration du matériau, ne peut pas être utilisée pour caractériser la structure des échantillons de caoutchouc naturel, dans l'état actuel de la méthode.

Les temps de relaxation T1 mesurés pour le carbone C4 ne montrent pas de différence significative entre les différents échantillons (Tableau 42), et traduisent des mobilités

moyennes équivalentes. Les mêmes observations ont été réalisées avec les temps de relaxation des autres noyaux. Le suivi des temps de relaxation ne permet donc pas de différencier les différentes fractions du caoutchouc naturel. Cette technique ne semble donc pas adaptée à la caractérisation physico-chimique du macrogel du caoutchouc naturel.

Finalement, les spectres RMN ^1H des fractions solubles ont mis en évidence des signaux supplémentaires, absents des spectres des macrogels (Figure 86). Notamment, des pics mesurés à 0,8 ppm et à 1,3 ppm correspondent respectivement à des atomes d'hydrogène présents sur des groupements $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2-$ de chaînes carbonées saturées. Ces groupements sont essentiellement présents sur les acides gras du caoutchouc naturel, concentrés dans la fraction soluble du caoutchouc naturel. La spectroscopie RMN permet donc de vérifier nos précédents résultats, concernant la répartition des lipides lors de l'extraction du macrogel. Un troisième signal à 6,5 ppm n'a pas encore été attribué.

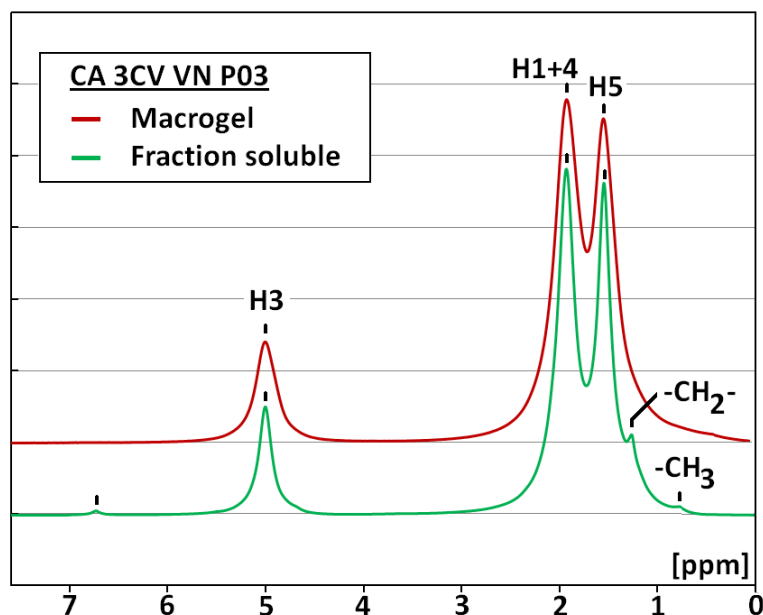


Figure 86. Spectres RMN ^1H mesurés pour le macrogel et la fraction soluble de la gomme CA3CVVN03 (TSR3CV, GT1).

2.4.4. Conclusions

La caractérisation par spectroscopie RMN des fractions solubles et des macrogels de trois gommes de caoutchouc naturel a d'abord permis de confirmer certains des résultats précédemment exposés, concernant la répartition des composés non-isoprènes durant l'extraction du macrogel. Les protéines et polypeptides du caoutchouc naturel sont clairement concentrés dans le macrogel (Figure 85). La RMN du solide permet également de différencier les macrogels étudiés, selon leur taux de protéines, en conservant le classement établi par analyse élémentaire (Tableau 42). D'autre part, des signaux attribuables aux lipides du caoutchouc naturel ont été observés sur les spectres RMN ^1H des fractions solubles étudiés, et sont absents des spectres obtenus pour les macrogels (Figure 86). Ces

résultats confirment la concentration des lipides, solubles en solvant organique, dans la fraction soluble du caoutchouc naturel.

Toutefois, les travaux entrepris en spectroscopie RMN afin de caractériser le degré de structuration des différentes fractions (Intensité maximale du C4 rigide, temps de relaxation T1) n'ont pas permis d'obtenir de résultats cohérents et exploitables (Tableau 42). En effet, l'intensité maximale du signal correspondant aux C4 immobiles (C4 rigide) mesuré pour chacun des macrogels est toujours inférieure à celle de la gomme brute correspondante, et traduit des degrés de structuration moins importants. La prise en compte des teneurs en composés non-isoprènes dans les différents macrogels, ne permet pas d'expliquer de tels résultats. Quoi qu'il en soit, ces résultats mettent en doute l'hypothèse formulée par Leblanc *et al.* ^[132], qui lie l'intensité maximale du signal C4 rigide au taux de structuration du caoutchouc naturel. Dans la suite de ce manuscrit, il a été décidé de ne plus considérer ces résultats.

2.5. Propriétés rhéologiques des différentes fractions

Les propriétés rhéologiques de chacune des fractions extraites à partir des 11 gommes de caoutchouc naturel étudiées, ont été mesurées avec la méthode développée en DMTA (Chapitre 1). Trois éprouvettes cylindriques ont été préparées pour chacun des macrogels et des fractions solubles extraits, en portant une attention particulière à l'épaisseur des pastilles utilisées ($e \geq 3$ mm). Des balayages en fréquence (0,01-50 Hz) ont ensuite été réalisés en double cisaillement à faible déformation ($\varepsilon = 2\%$, domaine linéaire), et à 100°C. Les propriétés rhéologiques mesurées ont été comparées à celles des gommes brutes correspondantes.

2.5.1. Evolution des propriétés rhéologiques des fractions extraites

La figure 87 présente l'évolution des propriétés rhéologiques avec la fréquence de sollicitation, pour les différents échantillons issus de la gomme CA10CIP01 (TSR10), fabriquée à partir de latex du clone GT1. Quelque soit l'échantillon considéré (Gomme brute, fraction soluble ou macrogel), le module de conservation (G') est supérieur au module de perte (G'') sur la gamme de fréquence étudiée. Pour les trois échantillons, les modules de conservation augmentent progressivement avec la fréquence de sollicitation. Le macrogel est la fraction la plus élastique avec des modules G' très élevés, alors que la fraction soluble est la moins élastique et présente des modules G' inférieurs à ceux mesurés pour la gomme brute. Concernant les modules de perte (G''), la fraction soluble présente le même comportement que la gomme brute : une augmentation de G'' est d'abord observée aux faibles fréquences, jusqu'à une valeur maximale G''_{\max} à partir de laquelle une diminution de G'' a lieu. Pour le macrogel de la gomme CA10CIP01, le module de perte G'' augmente progressivement entre 0,01 et 50 Hz. Aucun module de perte maximal n'est observé pour cet échantillon, sur la gamme de fréquences étudiée. Les modules G'' du macrogel sont

également très supérieurs à ceux de la gomme brute entre 0,01 et 50 Hz. Au contraire, la fraction soluble présente des modules G'' inférieurs à ceux de la gomme brute. Aux faibles fréquences, la fraction soluble présente également les facteurs d'amortissement ($\tan\delta$) les plus importants. Les valeurs de $\tan\delta$ les plus faibles sont alors mesurées pour le macrogel. Aux fréquences les plus élevées, le macrogel devient ensuite la fraction la plus amortissante. Il est intéressant de noter que le facteur d'amortissement du macrogel évolue moins vite entre 0,01 et 50 Hz, que ceux de la fraction soluble et de la gomme brute correspondante. Des résultats identiques ont été obtenus pour l'ensemble des onze gommes sélectionnées dans ce chapitre.

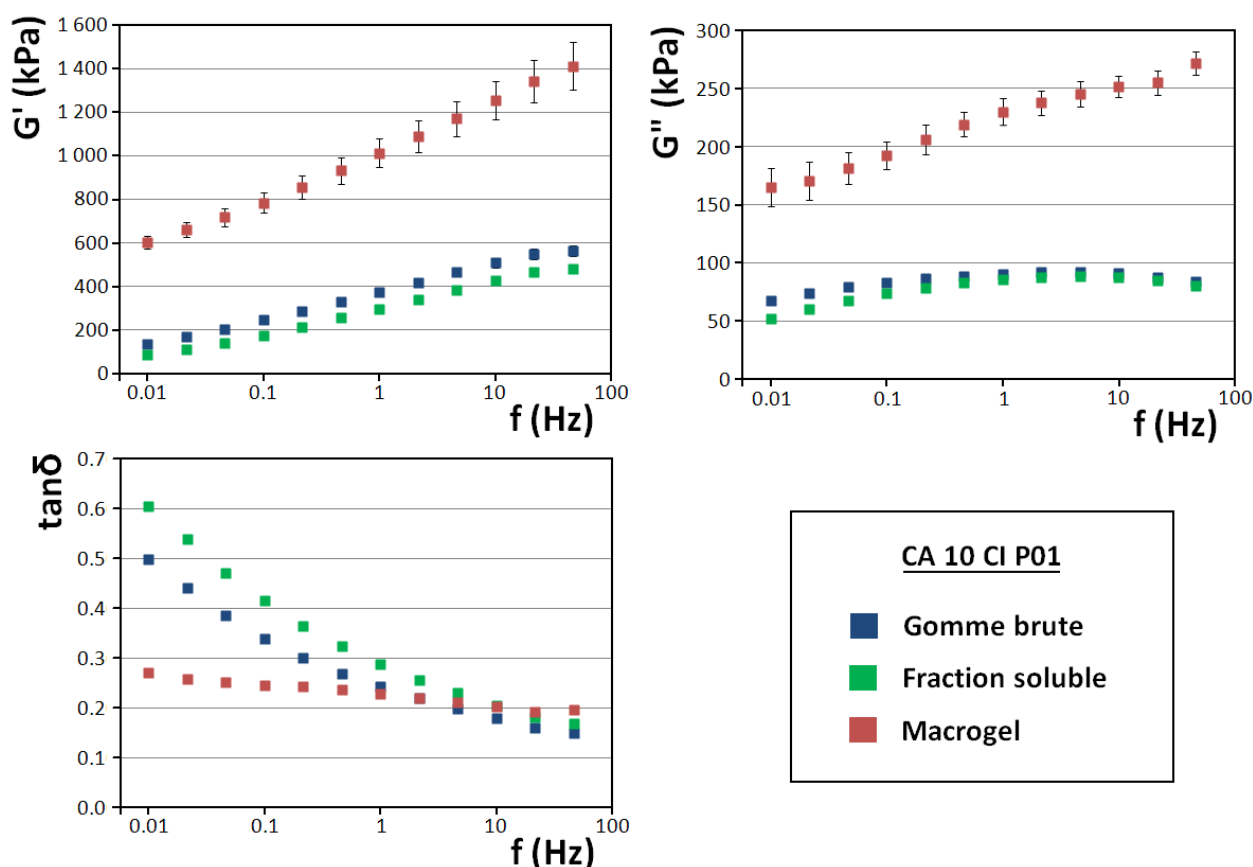


Figure 87. Propriétés rhéologiques mesurées en double cisaillement, à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) des différentes fractions de la gomme CA10CIP01 (TSR10, GT1).

Rappelons qu'une influence de la solvatation sur les propriétés rhéologiques d'une gomme de caoutchouc naturel a été mise en évidence dans le premier chapitre de ce manuscrit (Figure 43). Les propriétés rhéologiques des différentes fractions d'une même gomme ne peuvent donc pas être directement comparées. Toutefois, les 11 macrogels ayant subi le même protocole d'extraction, la comparaison de leurs propriétés rhéologiques respectives reste envisageable.

2.5.2. Comparaison des propriétés rhéologiques de différents macrogels

Les macrogels extraits à partir des onze échantillons de caoutchouc naturel étudiés, ont présenté des propriétés rhéologiques très différentes. Le tableau 43 donne les modules de conservation et de perte, ainsi que les coefficients d'amortissement des macrogels, à des fréquences de sollicitation en double cisaillement de 0,01 Hz et de 22 Hz.

Tout d'abord, le macrogel de la gomme CA3CVVNP10 (TSR3CV, GT1) présente des propriétés rhéologiques très supérieures aux macrogels extraits à partir des 9 gommes de grade TSR10 et TSR10CV. En effet, les modules de conservation G' de ce macrogel sont par exemple 7 à 11 fois plus élevés que les modules G' du macrogel de la gomme CA10CIP08 (TSR10, PB235), et traduisent des propriétés élastiques supérieures. De la même façon, les modules de perte G'' du macrogel de CA3CVVNP10 sont 9 à 16 fois plus importants que ceux du macrogel de la gomme CA10CIP08. Les facteurs d'amortissement les plus élevés ont également été mesurés pour le macrogel de CA3CVVNP10. Notons qu'un second macrogel issu d'une gomme de grade TSR3CV (CA3CVVNP03) a été étudié. Toutefois, les propriétés rhéologiques de cet échantillon n'ont pas pu être déterminées, de par la fragilité des éprouvettes cylindriques correspondantes. Ainsi, il n'est pas possible de conclure quant aux propriétés particulières du macrogel de la gomme CA3CVVNP10. Il pourrait s'agir d'une particularité des macrogels des gommes de caoutchouc naturel de grade TSR3CV. Les propriétés rhéologiques très supérieures du macrogel de CA3CVVNP10 pourraient également être causées par de plus faibles proportions de poly(*cis*-1,4-isoprène) dans l'échantillon, les macrogels des gommes TSR3CV ayant montré les plus fortes concentrations de protéines (CA3CVVNP03 : 50,8% m/m ; CA3CVVNP10 : 37,1% m/m ; Tableau 33).

Concernant les échantillons de grade TSR10 et TSR10CV, il est intéressant de noter que les quatre gommes présentant des taux de macrogel supérieurs à 14% (m/m), possèdent les macrogels avec les propriétés rhéologiques les plus faibles. En effet, les macrogels de ces quatre gommes de grade TSR10, présentent des modules de conservation G' et de perte G'' plus faibles, en comparaison des autres macrogels étudiés (Tableau 43). Notons également que parmi les gommes de grade TSR10 et TSR10CV présentant des taux de macrogels faibles ($\leq 6\%$ m/m), ce sont les macrogels issus des gommes de grade TSR10CV qui présentent les propriétés rhéologiques les plus faibles.

2.6. Influence de la composition du macrogel sur ses propriétés rhéologiques

2.6.1. Degré de réticulation du macrogel

L'équation de Flory-Rehner ^[116] permet de quantifier le degré de réticulation d'un polymère à partir de mesures de taux de gonflement à l'équilibre. Dans ce modèle, la capacité d'un polymère réticulé à se gonfler en présence d'un solvant est directement liée à

Tableau 43. Propriétés rhéologiques à 0,01 Hz et 22 Hz mesurées en double cisaillement, à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire) pour les 11 macrogels étudiés.

| Macrogel | Clone | Taux de macrogel extrait (%) | Propriétés rhéologiques du macrogel | | | | | | | |
|----------------|---------|------------------------------|-------------------------------------|----------|-------|----------|-----------|----------|-------|---------|
| | | | G' (kPa) | | | | G'' (kPa) | | | |
| | | | 0,01 Hz | | 22 Hz | | 0,01 Hz | | 22 Hz | |
| CA 3CV VN P03 | GT1 | 1,6 | N.D. | | N.D. | | N.D. | | N.D. | |
| CA 3CV VN P10 | GT1 | 3,6 | 5080 | (1545) a | 17886 | (1076) a | 1709 | (221) a | 3885 | (512) a |
| CA 10 CI P08 | PB235 | 1,3 | 758 | (64) b | 1627 | (206) b | 181 | (31) b | 239 | (40) b |
| CA 10 CI P01 | GT1 | 2,8 | 603 | (149) bc | 1344 | (385) bc | 165 | (56) b | 255 | (65) b |
| CA 10 CI P18 | GT1 | 5,2 | 452 | (16) c | 1018 | (23) cd | 94 | (7) cd | 135 | (5) d |
| CA 10CV CI P03 | GT1 | 2,1 | 436 | (28) c | 1031 | (96) cd | 102 | (17) bc | 166 | (20) c |
| CA 10CV CI P13 | GT1 | 4,7 | 405 | (26) cd | 999 | (73) d | 86 | (10) cde | 162 | (13) c |
| CA 10 CI P16 | GT1 | 14,0 | 359 | (14) d e | 734 | (37) e | 75 | (1) de | 77 | (4) e |
| CA 10 TH P03 | RRIM600 | 25,7 | 318 | (14) ef | 703 | (27) e | 69 | (3) e | 84 | (3) e |
| CA 10 TH P01 | RRIM600 | 20,8 | 310 | (3) ef | 741 | (15) e | 73 | (2) de | 97 | (3) e |
| CA 10 CI P21 | GT1 | 15,4 | 301 | (14) f | 686 | (23) e | 70 | (5) e | 84 | (2) e |

- N.D. : non déterminé.
- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

la densité de nœuds de réticulation de la macromolécule. Cette équation peut ainsi permettre de caractériser la structure de macrogels issus de gommés de caoutchouc naturel [32].

Afin d'estimer le degré de réticulation de chacun des onze macrogels étudiés dans ce chapitre, des mesures de taux de gonflement à l'équilibre ont été réalisées. Les échantillons de macrogel isolés (Figure 69) ont été remis en solution à 0,2% (m/v) dans du THF stabilisé. Après 8 jours de mise en solution, le séchage du macrogel récupéré permet de déterminer par gravimétrie, la masse de THF contenue dans le macrogel gonflé. Le taux de gonflement Q_{PI} de la fraction de poly(*cis*-1,4-isoprène) de chacun des macrogels est ensuite calculé (Eq. 11). Seule cette fraction de poly(*cis*-1,4-isoprène) est supposée pouvoir se gonfler en solvant organique. Notons que seules les protéines, constituant la grande majorité des composés non-isoprènes contenus dans le macrogel (Tableau 33), sont considérées dans notre modèle. Le taux de gonflement Q_{PI} (Eq. 11) et la fraction volumique v_{PI} de poly(*cis*-1,4-isoprène) contenu dans le macrogel gonflé (Eq. 12), permettent d'estimer M_c la masse molaire moyenne de la chaîne de poly(*cis*-1,4-isoprène) comprise entre deux nœuds de réticulation, à partir de l'équation de Flory-Rehner (Eq. 13). Le tableau 44 récapitule les résultats obtenus à partir des mesures de taux de gonflement pour chacun des onze macrogels.

$$Q_{PI} = \frac{V_{THF}}{V_{PI}} = \frac{m_{THF}}{\rho_{THF}} \times \frac{\rho_{PI}}{m_{PI}} = \frac{m_{MG \text{ gonflé}} - m_{MG \text{ sec}}}{\rho_{THF}} \times \frac{\rho_{PI}}{m_{MG \text{ sec}} \times (1 - W_P)} \quad (\text{Eq. 11})$$

| | |
|-------------------------|---|
| Q_{PI} | Taux de gonflement du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) ; |
| V_{THF} | Volume de THF dans le macrogel gonflé ; |
| V_{PI} | Volume de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) dans le macrogel ; |
| ρ_{THF} | Masse volumique du THF (0,887 g/cm ³) ; |
| ρ_{PI} | Masse volumique du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) (0,910 g/cm ³) ; |
| $m_{MG \text{ gonflé}}$ | Masse du macrogel gonflé en solvant ; |
| $m_{MG \text{ sec}}$ | Masse du macrogel sec ; |
| W_P | Fraction massique de protéines dans le macrogel sec. |

$$v_{PI} = \frac{V_{PI}}{V_{THF} + V_{PI} + V_P} = \frac{1}{Q_{PI} + 1 + \frac{V_P}{V_{PI}}} = \frac{1}{Q_{PI} + 1 + \frac{W_P \times \rho_{PI}}{(1 - W_P) \times \rho_P}} \quad (\text{Eq. 12})$$

| | |
|-------------|---|
| v_{PI} | Fraction volumique de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) dans le macrogel gonflé. |
| V_{PI} | Volume de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) dans le macrogel ; |
| V_{THF} | Volume de THF dans le macrogel gonflé ; |
| V_P | Volume de protéines dans le macrogel ; |
| Q_{PI} | Taux de gonflement Q du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) ; |
| W_P | Fraction massique de protéines dans le macrogel sec ; |
| ρ_{PI} | Masse volumique du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) (0,910 g/cm ³) ; |
| ρ_P | Masse volumique moyenne d'une protéine (1,37 g/cm ³). |

$$M_C = \rho_{PI} \cdot V_0 \cdot [0,5 \times v_{PI} - \sqrt[3]{v_{PI}}] / [\ln(1 - v_{PI}) + v_{PI} + \chi v_{PI}^2] \quad (\text{Eq. 13})$$

| | |
|-------------|---|
| M_C | Masse de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) entre 2 nœuds de réticulation ; |
| ρ_{PI} | Masse volumique du poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) (0,910 g/cm ³) ; |
| V_0 | Volume molaire du THF (81,30 cm ³ /mol) ; |
| v_{PI} | Fraction volumique de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène) dans le macrogel gonflé ; |
| χ | Paramètre d'interaction du couple Caoutchouc naturel – THF (0,442) ^[137] . |

Tableau 44. Evaluation du degré de réticulation des macrogels de onze gommes de caoutchouc naturel, à partir de mesures de taux de gonflement.

| Macrogel | Taux de macrogel extrait (%) | Quantité de macrogel récupérée après gonflement (%) | Q_{PI} Taux de gonflement de la fraction de PI du macrogel (Eq. 11) | M_C (kg/mol) Masse de PI entre deux nœuds de réticulation (Eq. 13) | Unités monomères entre deux nœuds de réticulation (= $M_C / 68$ g/mol) | Densité de nœuds de réticulation (mmol/kg) (= $1 / M_C$) |
|----------------|------------------------------|---|---|--|---|--|
| CA 10 CI P16 | 14,0 | 52,8 (0,8) | 85,7 (6,6) a | 1985 (265) a | 29196 (3897) | 0,51 (0,07) |
| CA 10 CI P21 | 15,4 | 54,2 (0,9) | 73,7 (12,8) a,b | 1544 (463) a,b | 22703 (6808) | 0,69 (0,20) |
| CA 10 TH P03 | 25,7 | 59,6 (1,3) | 68,0 (6,7) b | 1332 (233) b | 19592 (3425) | 0,76 (0,12) |
| CA 10 TH P01 | 20,8 | 63,7 (2,0) | 63,8 (7,2) b | 1193 (234) b | 17543 (3469) | 0,86 (0,16) |
| CA 10 CI P18 | 5,2 | 75,1 (1,6) | 43,4 (1,4) c | 605 (34) c | 8891 (499) | 1,66 (0,09) |
| CA 10CV CI P13 | 4,7 | 71,2 (5,6) | 39,6 (2,4) c | 515 (55) d | 7580 (813) | 1,96 (0,22) |
| CA 10CV CI P03 | 2,1 | 80,8 (1,4) | 22,0 (1,7) d | 181 (26) e | 2665 (380) | 5,59 (0,79) |
| CA 10 CI P08 | 1,3 | 88,0 (0,9) | 19,3 (1,6) d,e | 142 (22) e | 2082 (328) | 7,18 (1,09) |
| CA 10 CI P01 | 2,8 | 91,0 (0,8) | 16,5 (1,3) e | 108 (16) e | 1583 (228) | 9,43 (1,48) |
| CA 3CV VN P10 | 3,6 | 91,7 (2,1) | 9,2 (0,9) f | 37 (7) f | 548 (96) | 27,4 (4,36) |
| CA 3CV VN P03 | 1,6 | 98,5 (0,4) | 6,6 (0,6) f | 22 (3) f | 320 (51) | 46,6 (6,91) |

- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts-types obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Deux moyennes ne présentant pas de lettre commune sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Les taux de gonflement Q_{PI} calculés pour les différents macrogels sont compris entre 6,6 (CA3CVVN03) et 85,7 (CA10CIP16 ; Tableau 44). Le volume de THF présent dans chacun des macrogels gonflés, varie donc entre 6,6 et 85,7 fois le volume de poly(*cis*-1,4-isoprène). Ces résultats traduisent des degrés de réticulation très différents. En effet, la masse moyenne M_C de poly(*cis*-1,4-isoprène) comprise entre deux nœuds de réticulation, calculée à partir des valeurs de Q_{PI} , varie entre 22 et 1985 kg/mol pour les onze macrogels étudiés (Tableau 44). Le nombre d'unités monomères isoprènes entre deux nœuds de réticulation serait ainsi compris entre 320 pour le macrogel le plus structuré (CA3CVVN03), et près de 30000 pour le macrogel le moins structuré (CA10CIP16).

Rappelons que Tangpakdee et Tanaka ^[32] ont également estimé le degré de réticulation de trois macrogels issus d'échantillons de caoutchouc naturel, à partir de l'équation de Flory-Rehner (Eq. 13). Les auteurs ont calculé des masses moyennes M_C entre deux nœuds de réticulation, comprises entre 730 et 1100 kg/mol, pour leurs échantillons de macrogel. Toutefois, les auteurs ont considéré que la totalité du macrogel était constituée de poly(*cis*-1,4-isoprène), et ont ainsi négligé les proportions importantes de protéines. Nos

résultats, qui prennent en compte la proportion de composés non-isoprènes, ont montré que certains macrogels sont plus réticulés que les échantillons étudiés par Tangpakdee et Tanaka. A l'inverse, d'autres macrogels sont moins structurés et présentent des valeurs de M_C très supérieures.

Il est intéressant de noter que les deux macrogels issus des gommes TSR3CV sont les deux macrogels les plus structurés, avec des masses moyennes M_C de 22 et 37 kg/mol. En effet, la totalité des macrogels issus des gommes de grade TSR10 et TSR10CV présentent des valeurs de M_C supérieures à 100 kg/mol (Tableau 44). Parmi ces neuf gommes TSR10 et TSR10CV, les quatre échantillons présentant des taux de macrogel importants ($MG \geq 14,0\%$ m/m) possèdent les macrogels les moins structurés, dont les masses moyennes M_C sont comprises entre 1193 et 1985 kg/mol.

Les quantités de macrogel récupérées lors de ces mesures de taux de gonflement sont comprises entre 52,8% et 98,5% de la masse de macrogel mise en solution (Tableau 44). Ces résultats mettent en avant la présence d'une fraction soluble (macromolécules non liées ou microagrégats) dans les macrogels isolés à partir du protocole précédent (Figure 69). Notons qu'une augmentation du degré de réticulation du macrogel, est accompagnée d'une diminution de la proportion de fraction soluble dans le macrogel étudié.

2.6.2. Rôle des protéines sur la structure du macrogel

La masse moyenne M_C de poly(*cis*-1,4-isoprène) comprise entre deux nœuds de réticulation, permet ensuite de calculer la densité de nœuds de réticulation pour chacun des onze macrogels étudiés (M_C^{-1} ; Tableau 44). La figure 88A présente l'évolution de la densité de nœuds de réticulation, avec le taux de protéines contenues dans le macrogel avant gonflement. Il est intéressant de noter que la quantité de protéines présentes dans la matrice impacte directement la densité de nœuds de réticulation. En effet, une augmentation du taux de protéines dans le macrogel est accompagnée d'une augmentation de la densité du réseau. Une relation de la forme [$M_C^{-1} = a \cdot \exp(b \cdot W_P)$], dans laquelle W_P représente la fraction massique de protéines dans le macrogel, a ainsi été mise en évidence ($R^2 \approx 0,97$).

A partir des quantités de macrogel récupérées après gonflement (Tableau 44), il est possible d'estimer les taux de protéines des macrogels récupérés en fin d'expérience. Dans ce calcul, la totalité des protéines du macrogel initial sont supposées être retrouvées dans le macrogel récupéré après gonflement. La relation précédente mise en évidence entre le taux de protéines du macrogel et son degré de réticulation (Figure 88A) est retrouvée avec ces nouveaux taux de protéines (Figure 88B).

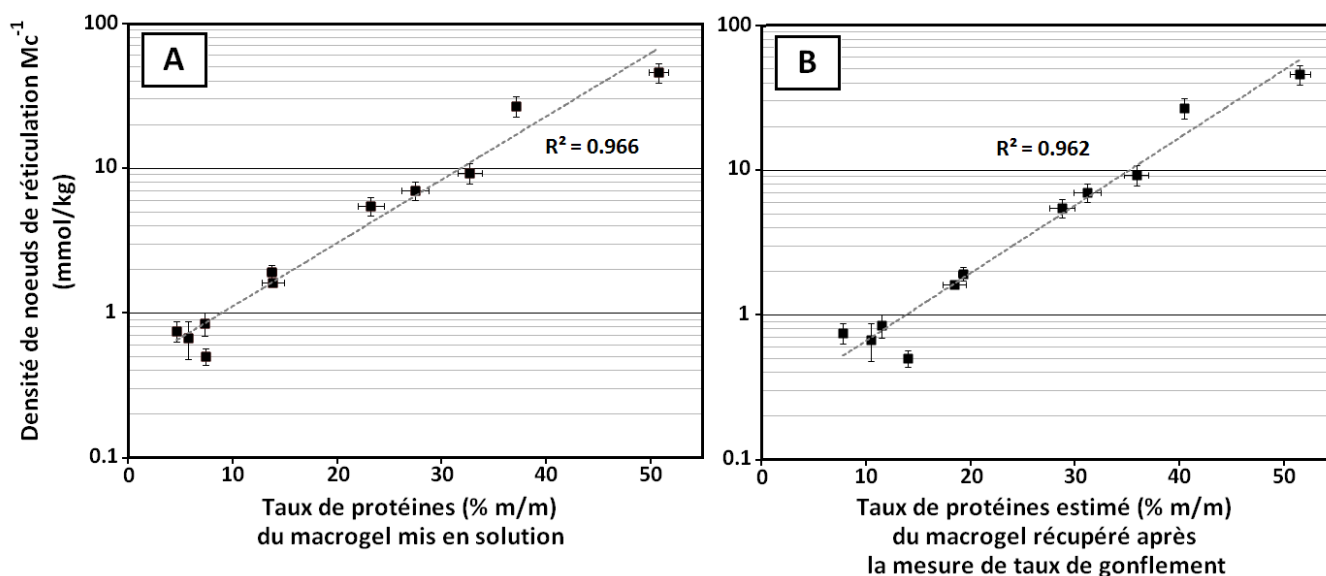


Figure 88. Influence du taux de protéines d'un macrogel avant (A) et après (B) gonflement sur son degré de réticulation.

Rappelons que plusieurs équipes ont souligné le rôle des protéines dans les interactions à l'origine du macrogel du caoutchouc naturel ^[13, 82]. Ces travaux de thèse viennent ainsi compléter les différents résultats décrits dans la littérature. En effet, nos résultats mettent en avant l'influence de la composition d'un macrogel (taux de protéines) sur sa structure (densité du réseau). Les protéines seraient ainsi responsables d'une grande majorité des nœuds de réticulation structurant le macrogel.

2.6.3. Influence de la structure du macrogel sur ses propriétés rhéologiques

La présence de nœuds de réticulation dans une matrice polymère est connue pour impacter les propriétés viscoélastiques du matériau ^[107]. Dans le cas du macrogel du caoutchouc naturel, les propriétés rhéologiques mesurées pour les onze échantillons étudiés (Tableau 43) ont été mises en relation avec les densités de nœuds de réticulation (M_c^{-1}) correspondantes (Figure 89). Il a ainsi été observé une augmentation des modules de conservation (G') et de perte (G''), ainsi que des coefficients d'amortissement ($\tan\delta$) à 0,01 et 22 Hz avec la densité de nœuds de réticulation des différents macrogels. Globalement, le degré de structuration d'un macrogel influe sur ses propriétés rhéologiques. Pour une même fréquence de sollicitation, les macrogels les plus réticulés présentent ainsi des modules et un coefficient d'amortissement plus élevés que les macrogels les moins réticulés.

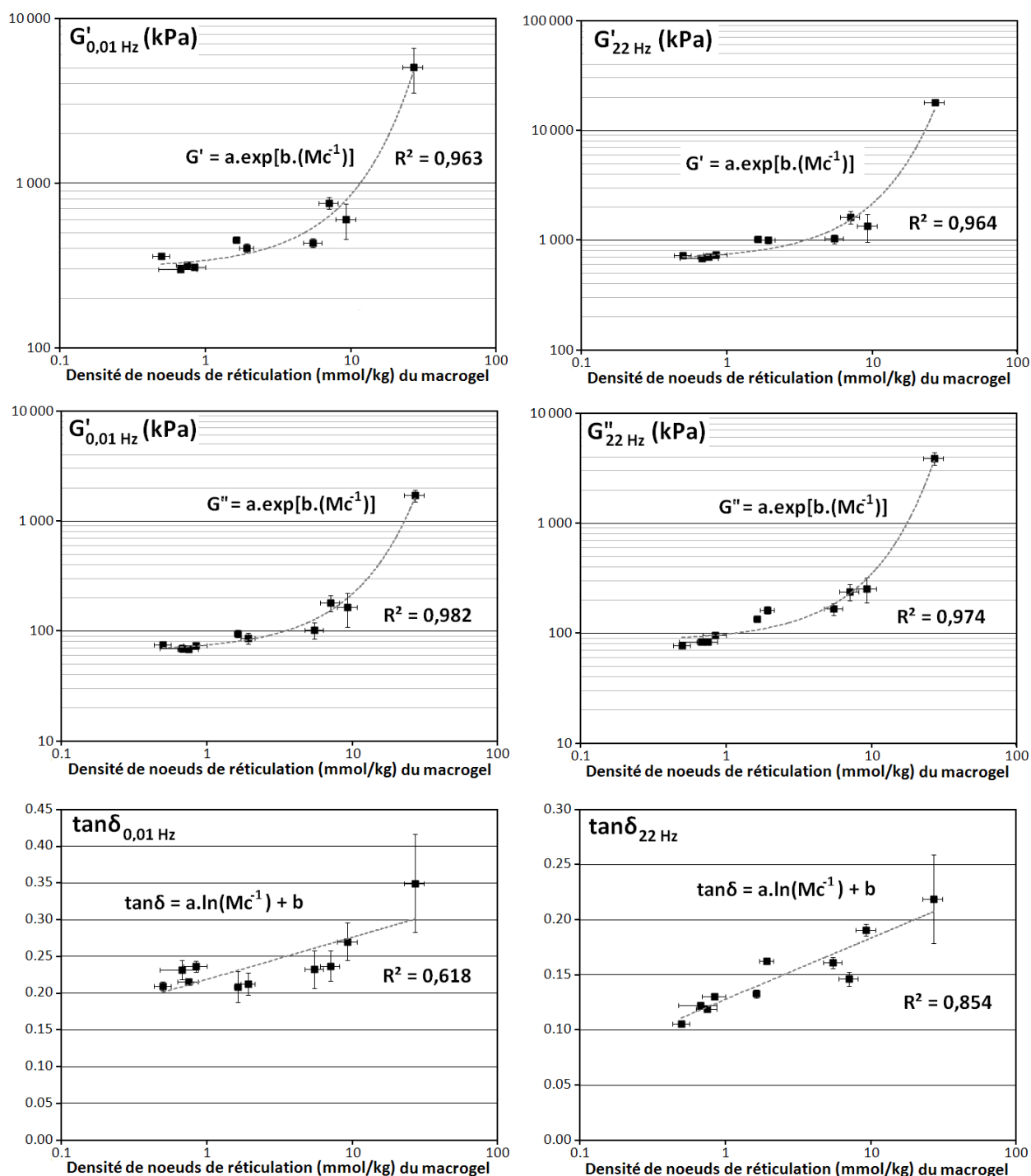


Figure 89. Evolution des propriétés rhéologiques d'un macrogel avec son degré de réticulation.

2.6.4. Conclusions

Dans ces derniers travaux de thèse, une relation a d'abord été établie entre la composition et la structure des différents macrogels étudiés. Les protéines, qui représentent de 4,6 à 50,8% (m/m) des onze macrogels, impactent directement le taux de réticulation de l'échantillon (Figure 88). Un macrogel contenant un taux de protéines élevé sera ainsi plus structuré qu'un macrogel contenant un taux de protéines relativement faible (Figure 90).

Enfin, il a été montré une influence du degré de structuration sur les propriétés rhéologiques d'un macrogel (Figure 89). Une augmentation de la densité de nœuds de réticulation, causée par une augmentation du taux de protéines, est accompagnée d'une augmentation des modules de conservation et de perte, ainsi que des coefficients d'amortissement du macrogel, sur la gamme de fréquences étudiées (Figure 90).

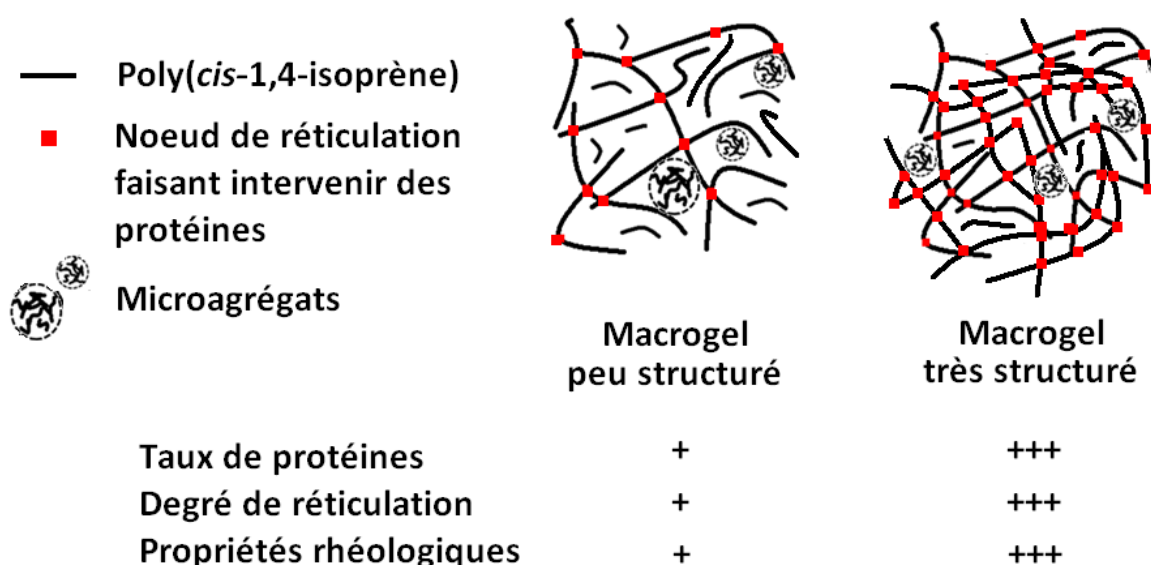


Figure 90. Rôle des protéines dans la structure du macrogel du caoutchouc naturel.

3. Conclusions

Concernant d'abord le microgel du caoutchouc naturel, un protocole permettant d'isoler le Microgel_{<1μ} a été développé en SEC, après conditionnement des colonnes avec une solution de TBABr. Cette méthode représente à l'heure actuelle le seul moyen d'isoler les microagrégats du caoutchouc naturel. La solution ainsi préparée a été caractérisée par microscopie électronique en transmission (TEM) et par diffusion dynamique de la lumière (DLS). Les deux techniques ont présenté des résultats concordants et ont mis en avant la présence de deux populations de microagrégats de tailles différentes dans la solution de Microgel_{<1μ}. Ces travaux constituent la première étape dans la caractérisation des microagrégats du caoutchouc naturel. La poursuite de cette étude en TEM-EDX par exemple, pourrait permettre de définir leur composition, et d'identifier le rôle des composés non-isoprènes dans la structure du microgel.

Les travaux de caractérisation physico-chimique entrepris sur les macrogels extraits à partir d'une sélection de onze échantillons de caoutchouc naturel différents, ont permis d'en étudier la composition, la structure et les propriétés rhéologiques. Les méthodes de caractérisation développées en spectroscopie FT-IR et en DMTA, présentées dans le premier chapitre de cette thèse, ont notamment été utilisées dans ces différentes études.

Ainsi, nous avons montré que le macrogel du caoutchouc naturel est constitué d'une proportion importante de protéines (4,6-50,8% m/m), représentant clairement la majorité des composés non-isoprènes présents. Une corrélation entre la concentration en protéines et le degré de structuration du macrogel a également été mise en évidence. Les macrogels les plus réticulés sont en effet les plus concentrés en protéines. Enfin, le degré de structuration du macrogel influe également sur ses propriétés rhéologiques. Dans ces travaux de thèse, une relation de type « Composition – Structure – Propriétés rhéologiques » a donc été mise en évidence pour les échantillons de macrogel étudiés.

Les protéines seraient donc à l'origine d'une majorité des interactions à l'origine du macrogel du caoutchouc naturel. Les résultats obtenus ne permettent pas de conclure avec certitude sur le rôle des éléments minéraux et des composés estérifiés dans la structure du macrogel. La poursuite de ces travaux, notamment sur la réaction de méthanolyse à réaliser dans du THF stabilisé, pourrait permettre de statuer sur le rôle de ces composés non-isoprènes secondaires.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans cette thèse, plusieurs méthodes de caractérisation ont été développées afin d'étudier la composition, la mésostructure et les propriétés rhéologiques des échantillons de caoutchouc naturel fabriqués dans le cadre du projet CANAOPT. Notamment, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) en réflexion totale atténuée (ATR) permet de quantifier rapidement les protéines et certains lipides présents dans le caoutchouc naturel. Cette nouvelle méthode, très prometteuse, a fait l'objet de premiers essais inter-laboratoires concluants durant le premier semestre 2015. Ces essais ont montré que la méthode pourrait à terme être utilisée chez les différents partenaires du projet CANAOPT. Au niveau du CIRAD, il a été proposé d'analyser systématiquement chaque nouvel échantillon réceptionné au laboratoire, afin de compléter progressivement la base de données existante, et d'affiner les modèles présentés dans le premier chapitre de ce manuscrit.

Les travaux de Kim *et al.* ^[74], qui ont mis en évidence une influence du conditionnement des colonnes de chromatographie d'exclusion stérique (SEC) avec une solution contenant un sel d'ammonium quaternaire (TBABr), ont été repris et approfondis afin de caractériser les microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}). L'étude de la séparation des microagrégats par ce conditionnement a permis une première optimisation de la méthode qui a ensuite été utilisée pour caractériser 25 gommes de caoutchouc naturel. L'utilisation de la SEC-MALS en mode TBABr a notamment permis de montrer une influence du grade et de l'origine clonale de l'échantillon sur la structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel_{<1 μ}). Trois populations de microagrégats ont ainsi été observées pour les gommes de grade TSR3CV ; contrairement aux gommes de grade TSR10 et TSR10CV qui ont présenté uniquement deux populations. Rappelons toutefois que les problèmes de reproductibilité rencontrés ne permettent pas une utilisation de la méthode en routine, à l'heure actuelle. Par la suite, il serait intéressant de poursuivre cette étude afin de définir les conditions optimales de traitement des colonnes, qui permettraient une séparation reproductible du Microgel_{<1 μ} . Rappelons qu'un mécanisme d'action du TBABr sur les colonnes de SEC a été proposé : la probable restructuration du gel poreux contenu dans les colonnes de SEC influencerait sur le temps d'élution des microagrégats, et permettrait d'éviter leur élution anormale. L'utilisation de colonnes avec des tailles de pores réduites, pourrait permettre de valider ce mécanisme.

Enfin, la SEC-MALS en mode TBABr a été utilisée pour préparer une solution de Microgel_{<1 μ} par collection de fraction, lors d'injections répétées d'une même solution préparée à partir d'une gomme TSR10. Cette procédure constitue la seule méthode permettant de purifier du microgel en vue d'une caractérisation. La solution de Microgel_{<1 μ} préparée a été caractérisée par microscopie électronique en transmission (TEM) ainsi qu'en

diffusion dynamique de la lumière (DLS). Deux populations de microagrégats ont été mises en évidence pour cet échantillon de TSR10. Une première population présente des diamètres de l'ordre de 200-500 nm, alors que la seconde population présente des diamètres plus importants, de l'ordre du micromètre. Les observations réalisées en TEM ont notamment montré que les microagrégats de la seconde population étaient probablement formés par agrégation de microagrégats de la première population. Par la suite, une caractérisation par TEM-EDX de la solution de Microgel_{<1μ} pourrait permettre de déterminer la composition des microagrégats du caoutchouc naturel et de définir clairement le rôle des composés non-isoprènes dans leur structure.

Les trop faibles taux de macrogel généralement présents dans les gommés de caoutchouc naturel ne permettent pas d'extraire des quantités importantes en vue d'une caractérisation physico-chimique. Notamment, les outils de mesures des propriétés rhéologiques couramment utilisées dans l'industrie des élastomères (Viscosimètre Mooney, RPA 2000) requièrent des quantités de matière de l'ordre de la dizaine de grammes à chaque prise d'essai. Ces quantités de matière, inaccessibles dans le cas des échantillons de macrogel, nous ont conduits à développer une méthode de caractérisation par analyse thermomécanique dynamique (DMTA). La conception des éprouvettes cylindriques, utilisées pour des mesures de propriétés rhéologiques lors de sollicitation en double cisaillement, nécessitent des prises d'essai moyennes de 600 mg environ. La méthode peut donc être utilisée pour caractériser les propriétés rhéologiques des différentes fractions du caoutchouc naturel. L'utilisation de cette nouvelle méthode pour caractériser les propriétés rhéologiques d'une sélection de 25 gommés de caoutchouc naturel, a dans un premier temps permis de valider la cohérence des résultats obtenus. En effet, nous avons montré qu'il existe des corrélations très significatives entre les propriétés rhéologiques du matériau, et la structure macromoléculaire des pelotes statistiques caractérisées par SEC-MALS en mode TBABr. Notamment, les modules de conservation (G') et de perte (G'') en cisaillement du matériau à basse fréquence (0,01 Hz) sont gouvernés par les masses molaires moyennes en poids (M_w) des pelotes statistiques. Les masses molaires moyennes en nombre (M_n) gouvernent quant à elles les propriétés rhéologiques aux fréquences plus élevées (22 Hz). Rappelons que l'impact des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm sur les corrélations mises en évidence est négligeable. Enfin, l'utilisation de la représentation Cole-Cole ($G''=f(G')$), nous a permis de déterminer pour cette sélection d'échantillons, la valeur du paramètre K' défini par le modèle de Perez ^[111, 113]. Il a été montré une corrélation entre ce paramètre K' et le taux de gel total des gommés de caoutchouc naturel. Globalement, une augmentation du taux de gel total entraîne une diminution linéaire de la valeur de K' , décrit dans la littérature comme étant inversement proportionnel à la densité de nœuds de réticulation du matériau. Ainsi, ces travaux ont permis de valider la méthode de mesures des propriétés rhéologiques en DMTA, qui fournit des résultats cohérents, en lien avec la mésostructure des différents échantillons. Cette méthode peut donc être utilisée pour caractériser les propriétés rhéologiques de la fraction soluble et du macrogel du caoutchouc

naturel, séparés selon un protocole défini dans ce manuscrit. Enfin, cette étude a également permis de remplir un des objectifs principaux de cette thèse, en démontrant l'influence du taux de gel total sur les propriétés rhéologiques du caoutchouc naturel. Dans la continuité de ces travaux de thèse, il serait intéressant de confirmer la robustesse du modèle utilisant le paramètre K' en réalisant une étude similaire, sur des gommés non laminées dont les propriétés rhéologiques seraient mesurées par RPA, par exemple.

La dernière partie de cette thèse concerne la caractérisation physico-chimique du macrogel du caoutchouc naturel. La composition, la structure et les propriétés rhéologiques des différentes fractions d'une sélection de 11 échantillons de caoutchouc naturel du projet CANAOPT, ont été étudiées. Nous avons montré que les lipides extractibles constituaient moins de 0,5% de la masse du macrogel du caoutchouc naturel. La présence de composés estérifiés non-extractibles dans les différents macrogels a été soulignée par spectroscopie FT-IR. La caractérisation de ces composés après méthanolyse du macrogel pourrait être une piste à suivre pour approfondir ces résultats de thèse.

Concernant les éléments minéraux du caoutchouc naturel, nous avons mesuré des concentrations plus élevées dans le macrogel que dans la fraction soluble correspondante. Une proportion importante des éléments minéraux présents dans le macrogel, est retrouvée sous la forme de microagrégats d'origine minérale, et ne semble donc pas participer à la structuration du macrogel. La résolution limitée du MEB-EDX utilisé dans cette étude, n'a pas permis de conclure quant à la présence d'éléments minéraux structurant le macrogel. Une étude en TEM-EDX pourrait venir compléter ces premiers résultats.

Enfin, des dosages d'azote réalisés sur les 11 macrogels étudiés ont permis d'estimer les taux de protéines des différents échantillons. Les protéines représenteraient ainsi entre 5% et 51% de la masse du macrogel et constituent donc la majorité des composés non-isoprènes de cette fraction. Des mesures de taux de gonflement ont permis de corrélérer le taux de protéines au degré de réticulation du macrogel. Globalement, une augmentation du taux de protéines conduit à une augmentation du degré de réticulation du macrogel. Les protéines seraient donc responsables d'une grande majorité des nœuds de réticulation structurant le macrogel. Une influence de la structure du macrogel sur ses propriétés rhéologiques a également été soulignée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Compagnon, P., ed. *Le caoutchouc naturel*. Collection techniques agricoles et productions agricoles n°35. 1986, Maisonneuve & Larose: Paris, France. 595.
- [2] Nawamawat, K., J.T. Sakdapipanich, C.C. Ho, J. Song and J.G. Vancso, *Surface nanostructure of Hevea brasiliensis natural rubber latex particles*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 390 (2011) 157-166.
- [3] Sainte-Beuve, J., L. Vaysse, and F. Bonfils, *Caoutchouc naturel – Maîtrise de la variabilité*, in *La chimie verte*. 2006, Editions Tec&Doc Lavoisier: Paris, France. p. 215-237.
- [4] Ehabe, E., F. Ngolemasango, F. Bonfils, and J. Sainte-Beuve, *Precision associated with determination of dirt content of natural rubber*, Journal Applied Polymer Science, 81 (2001) 957-962.
- [5] Le Roux, Y., E.E. Ehabe, J. Sainte-Beuve, J. Nkengafac, G.E. Nkeng, F. Ngolemasango, and S.M. Gobina, *Seasonal and Clonal Variations in the Latex and Raw Rubber of Hevea Brasiliensis*, Journal of Rubber Research, 3 (2000) 142-156.
- [6] Yip, E., *Clonal Characterisation of Latex and Rubber Properties*. Journal of Natural Rubber Research, 1990.
- [7] Kim, C., M.H. Morel, J. Sainte-Beuve, S. Guilbert, and F. Bonfils, *Better Characterization of Raw Natural Rubber by Decreasing the Rotor Speed of Mooney Viscometer: Role of Macromolecular Structure*, Polym. Eng. Sci., 50 (2009) 240-248.
- [8] Bonfils, F., C. Char, Y. Garnier, A. Sanago, and J. Sainte-Beuve, *Inherent molar mass distribution of clones and properties of crumb Natural Rubber*, Journal of Rubber Research, 3 (2000) 164-168.
- [9] Ehabe, E.E., Y. Le Roux, F. Ngolemasango, F. Bonfils, G. Nkeng, B. Nkouonkam, J. Sainte-Beuve, and M.S. Gobina, *Effect of Maturation on the Bulk Viscosity and Molecular Chain Length of Cuplump Natural Rubber*, J. Appl. Polym. Sci., 86 (2002) 703-708.
- [10] Zhong, J.P., C.P. Li, S.D. Li, L.X. Kong, L. Yang, S.Q. Liao, and X.D. She, *Study on the Properties of Natural Rubber during Maturation*, Journal of Polymer Materials, (2009) 351-360.
- [11] Intapun, J., J. Sainte-Beuve, F. Bonfils, V. Tanrattanakul, E. Dubreucq, and L. Vaysse, *Effect of Microorganisms During the Initial Coagulum Maturation of Hevea Natural Rubber*, Journal of Applied Polymer Science, 118 (2010) 1341-1348.
- [12] Sainte-Beuve, J., *Le séchage du caoutchouc naturel : facteur de correction de la variabilité ?* 1997, Université Montpellier II: Montpellier, France.
- [13] Tanaka, Y. and L. Tarachiwin, *Recent Advances in Structural Characterization of Natural Rubber*. Rubber Chem. Technol., 82 (2009) 283-314.
- [14] Wang, P.Y., Y.Z. Wang, B.L. Zhang, and H.H. Huang, *Effect of Non-Rubber Substances on Vulcanization Kinetics of Natural Rubber*, J. Appl. Polym. Sci., 126 (2012) 1183-1187.
- [15] Altman, R.F.A., *Natural vulcanization accelerators in hevea latex*. Industrial engineering chemistry, 1948: p. 241-249.
- [16] Sarkawi, S.S., W.K. Dierkes, and J.W.M. Noordermeer, *The influence of non-rubber constituents on performance of silica reinforced natural rubber compounds*. European Polymer Journal, 49 (2013) 3199-3209.

- [17] Eng, A.H. and Y. Tanaka, *Structure of natural rubber*. Trends Polym. Sci., 3 (1993) 493-513.
- [18] Vaysse, L., F. Bonfils, J. Sainte-Beuve, and M. Cartault, *Natural Rubber*, in *Polymer Science: A Comprehensive Reference. Polymers for a Sustainable Environment and Green Energy*, J.E. McGrath, M.A. Hickner, and R. Höfer, Editors. 2012, Elsevier: Amsterdam. p. 281-293.
- [19] Salomez, M., M. Subileau, J. Intapun, F. Bonfils, J. Sainte-Beuve, L. Vaysse, and E. Dubreucq, *Micro-organisms in latex and natural rubber coagula of Hevea brasiliensis and their impact on rubber composition, structure and properties*, J. Appl. Microbiol., 117 (2014) 921-929.
- [20] Altman, R.F.A., *Organic analysis of hevea latex. VII. Fat acid, resin acids, sterols, and wax alcohols. A preliminary note*. Rubber chemistry and technology, 19 (1946) 788-791.
- [21] Hasma, H., *Lipids in the latex and rubber of Hevea Brasiliensis muell.arg. and their effects on some properties of natural rubber*. 1984, Faculty of Agricultural Sciences: Gent, Belgique. p. 165 p.
- [22] Hasma, H. and A. Subramaniam, *Composition of lipids in latex of Hevea Brasiliensis clone RRIM 501*. Journal of natural rubber research, 1 (1986) 30- 40.
- [23] Nair, N.U., M. Thomas, S. Sreelatha, S.P. Simon, K.R. Vijayakumar, and P.J. George, *Clonal variation in lipid composition in the latex of Hevea brasiliensis and its implication in latex production*, J. Nat. Rubber Res. Indian., 6 (1993) 143-145.
- [24] Liengprayoon, S., F. Bonfils, J. Sainte-Beuve, K. Sriroth, E. Dubreucq, and L. Vaysse, *Development of a new procedure for lipid extraction from Hevea brasiliensis natural rubber*, Eur. J. Lipid Sci. Tech., 110 (2008) 563-569.
- [25] Liengprayoon, S. *Characterization of lipid composition of sheet rubber from Hevea brasiliensis and relations with its structure and properties*. Ph.D. Thesis. Kasetsart University (Thailand) and Montpellier SupAgro (France) 2008.
- [26] Liengprayoon, S., J. Chaiyut, K. Sriroth, F. Bonfils, J. Sainte-Beuve, E. Dubreucq, and L. Vaysse, *Lipid compositions of latex and sheet rubber from Hevea brasiliensis depend on clonal origin*, Eur. J. Lipid Sci. Tech., 115 (2013) 1021-1031.
- [27] Sansatsadeekul, J., J. Sakdapipanich, and P. Rojruthai, *Characterization of associated proteins and phospholipids in natural rubber latex*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 111 (2011) 628-634.
- [28] Nawamawat, K., J.T. Sakdapipanich, and C.C. Ho, *Effect of Deproteinized Methods on the Proteins and Properties of Natural Rubber Latex during Storage*. Macromol. Symp., 288 (2010) 95-103.
- [29] Dai, L., G. Kang, Y. Li, Z. Nie, C. Duan, and R. Zeng, *In-depth proteome analysis of the rubber particle of Hevea brasiliensis (para rubber tree)*, Plant Mol Biol, 82 (2013) 155-168.
- [30] Berthelot, K., S. Lecomte, Y. Estevez, F. Peruch, *Hevea brasiliensis REF (Hev b 1) and SRPP (Hev b 3): An overview on rubber particle proteins*, Biochimie, 106 (2014) 1-9.
- [31] Chaikumpollert, O., Y. Yamamoto, K. Suchiva, and S. Kawahara, *Protein-free natural rubber*, Colloid Polym Sci, 290 (2012) 331-338.
- [32] Tangpakdee, J. and Y. Tanaka, *Characterization of sol and gel in Hevea natural rubber*. Rubber Chem. Technol., 70 (1997) 707-713.
- [33] Siti Maznah, K., A. Baharin, I. Hanafi, M.E. Azhar, and M.H. Mas Rosmal Hakim, *Effect of acid treatment on extractable protein content, crosslink density and tensile properties of natural rubber latex films*, Polym. Test., 27 (2008) 823-826.

- [34] Siler, D.J. and K. Cornish, *Measurement of Protein in Natural Rubber Latex*. Anal. Biochem., 229 (1995) 278-281.
- [35] Nimpaiboon, A. and J. Sakdapipanich, *A model study on effect of glucose on the basic characteristics and physical properties of natural rubber*. Polym. Test., 32 (2013) 1408-1416.
- [36] Thepchalerm, C., *Influence of Hevea brasiliensis latex compartments on the storage hardening of Natural Rubber. Study of the mesostructure by A4F-MALS and of the mineral composition by ICP-MS*. 2014, PhD thesis, Montpellier SupAgro, and Prince of Songkla University: Montpellier, France. p. 172.
- [37] Hasma, H. and A.B. Othman, *Role of some non-rubber constituents on thermal oxidative ageing of Natural Rubber*. Journal of Natural Rubber Research, 5 (1990) 1-8.
- [38] Tuampoemsab, S. and J. Sakdapipanich, *Role of Naturally Occuring Lipids and Proteins on Thermal Aging Behaviour of Purified Natural Rubber*. Kautschuk Gummi Kunststoffe, 60 (2007) 678-684.
- [39] Gopalakrishnan, J., M. Thomas, A. Philip, R. Krishnakumar, and J. Jacob, *Contribution of latex cations to the water relations and latex yield in Hevea brasiliensis*, Natural Rubber Research, 23 (2010) 93-97.
- [40] Jacob, J.L., J. d'Auzac, and J.C. Prevôt, *The composition of natural latex from Hevea brasiliensis*. Clinical Reviews in Allergy, 11 (1993) 325-337.
- [41] Belmas, R., *Contribution to the physical chemistry of Hevea latex. I. Metal cations in latex*. Rubber Chem. Technol., 25 (1952) 124-132.
- [42] Flint, C.F., and H. Ramage, *A note on the ash composition of Rubber latex*. J. Soc. chem. Ind., 54 (1935) 337.
- [43] Yip, E., and H.C. Chin, *Latex flow studies X. Distribution of metallic ions between phases of Hevea latex and the effects of yield stimulation on this distribution*. J. Rubb. Res. Inst. Malaysia, 25 (1977) 31-49.
- [44] Gan, S.N., and K.F. Ting, *Effect of treating latex with some metal ions on storage hardening of natural rubber*. Polymer, 34 (1993) 2142-2147.
- [45] Traoré, M.S., M. Diarrassouba, K.M. Okoma, K.E. Dick, E.F. Soumahin, L.F. Coulibaly, and S. Obouayeba, *Long-term effect of different annual frequencies of ethylene stimulation on rubber productivity of clone GT 1 of Hevea brasiliensis (Muell. Arg.) in South East of Côte d'Ivoire*, Agric. Biol. J. N. Am., 2 (2011) 1251-1260.
- [46] Silpi, U., P. Chantuma, P. Kasemsap, P. Thaler, S. Thanisawanyangkura, A. Lacointe, T. Ameglio, and E. Gohet, *Spatial distribution of sucrose and metabolic activity in the laticiferous tissue of three Hevea brasiliensis clones : effects of tapping and ethephon stimulation at trunk scale*, in RRDB annual Meeting, Kunming, China, 2004.
- [47] George, U.U., J.A. Andy, and A. Joseph, *Biochemical And Phyto-Chemical Characteristics Of Rubber Latex (Hevea Brasiliensis) Obtained From A Tropical Environment In Nigeria*, International Journal of Scientific & Technology Research, 3 (2014).
- [48] Tarachiwin, L., Y. Tanaka, and J. Sakdapipanich, *Structure and Origin of Long-Chain Branching and Gel in Natural Rubber*. Kautschuk Gummi Kunststoffe, 58 (2005) 115-122.
- [49] Lynen, F., *Biochemical problem of rubber biosynthesis*. J Rubb Res Inst Malaya, 21 (1969) 389-406.
- [50] D'Auzac, J., J. L. Jacob and H. Chrestin., *Physiology of Rubber Tree Latex*, C. Press, Editor. 1989: Boca Raton, Florida. p. 470.

- [51] Sekhar, B.C., *Inhibition of Hardening in Natural Rubber*. Rubber Chemistry and Technology, 35 (1962) 889-895.
- [52] Burfield, *Epoxidation of Natural Rubber Latices: Methods of Preparation and Properties of Modified Rubbers*. J. Appl. Polym. Sci., 29 (1984) 1661-1673.
- [53] Shiibashi, T., *Gel structure characterisation of NR and IR and direct observation of individual polymer molecules by electron microscopy*. Nippon Comu Kyokaishi, 60(6), 298; translated (1987) in International Polymer Science and Technology, 14 (1987) T/33-T/39.
- [54] Sekhar, B.C., *Abnormal Groups in Rubber and Microgel*. Proceedings of the 4th Rubber Technology Conference, London, 1962: p. 460-469.
- [55] Bonfils, F. and C. Char, *Natural Rubber: GPC/SEC Analysis*, in *Encyclopedia of chromatography*, 2nd ed, J. Cazes, Editor. 2005: New York. p. 1101-1104.
- [56] Swanson, C.L., R.A. Buchanan, and F.H. Otey, *Molecular Weights of Natural Rubbers from Selected Temperate Zone Plants*. J. Appl. Polym. Sci., 23 (1979) 743-748.
- [57] McMahan, C., D. Kostyal, D. Lhamo, and K. Cornish, *Protein influences on guayule and Hevea natural rubber sol and gel*, J. Appl. Polym. Sci., 132 (2015) DOI: 10.1002/app.42051.
- [58] Bushman, B.S., et al., *Identification and comparison of natural rubber from two Lactuca species*. Phytochemistry, 67 (2006) 2590-2596.
- [59] Subramaniam, A., *Gel Permeation Chromatography of Natural Rubber*. Rubber Chem. Technol., 45 (1972) 346-358.
- [60] Galiani, P.D., M.A. Martins, P. de-Souza-Goncalves, C.M. McMahan, and L.H. Capparelli-Mattoso, *Seasonal and clonal variations in technological and thermal properties of raw Hevea Natural Rubber*, J. Appl. Polym. Sci., 122 (2011) 2749-2755.
- [61] Subramaniam, A. *Characterisation of Natural Rubber*. in *International Rubber Technology Conference*. 1993. Kuala Lumpur, Malaysia: Rubber Research Institute of Malaysia Publication.
- [62] Fuller, K.N.G., and W.S. Fulton, *The influence of molecular weight distribution and branching on the relaxation behaviour of uncrosslinked natural rubber*. Polymer, 31 (1990) 609-615.
- [63] Angulo-Sanchez, J.L., and P. Caballero-Mata, *Long-chain branching in natural rubber hevea rubber-determination by gel permeation chromatography*. Rubber Chem. Technol., 54 (1981) 34-41.
- [64] Sakdapipanich, J.T., T. Kowitteerawut, K. Suchiva, and Y. Tanaka, *Long-chain branching mechanism controlling molecular weight in Hevea rubber*, Rubber Chem. Technol., 72 (1999) 712-720.
- [65] Kim, C., J. Sainte-Beuve, S. Guilbert, and F. Bonfils, *Study of chain branching in natural rubber using size-exclusion chromatography coupled with a multi-angle light scattering detector (SEC-MALS)*, European Polymer Journal, 45 (2009) 2249-2259.
- [66] Almdal, K., J. Dyre, S. Hvidt, and O. Kramer, *Towards a Phenomenological Definition of the Term 'Gel'*, Polymer Gels and Networks, 1 (1993) 5-17.
- [67] J.P. Flory, *Introductory Lecture*, Faraday Discuss. Chem. Soc., 57 (1974) 7-18.
- [68] Nishinari, K., *Sorne Thoughts on The Definition of a Gel*. Progr Colloid Polym Sci, 136 (2009) 87-94.
- [69] Kavanagh, G.M., and S.B. Ross-Murphy, *Rheological characterisation of Polymer Gels*. Prog. Polym. Sci., 23 (1998) 533-562.

- [70] Ehabe, E.E., and F. Bonfils, *Novel Insight into the Gel Phase of Hevea Natural Rubber*. J. Rubber Res., 14 (2011) 1-10.
- [71] Bonfils, F., A. Doumbia, C. Char, and J. Sainte-Beuve, *Evolution in the Natural Rubber native structure and Plasticity Retention Index from the first tapping of clonal trees*, J. Appl. Polym. Sci., 97 (2004) 903-909.
- [72] Nimpaiboon, A., S. Amnuaypornsi, and J. Sakdapipanich, *Influence of gel content on the physical properties of unfilled and carbon black filled natural rubber vulcanizates*. Polym. Test., 32 (2013) 1135-1144.
- [73] Voznyakovskii, A.P., I.P. Dmitrieva, V.V. Klyubin, and S.A. Tumanova, *A dynamic light scattering study of natural rubber in solution*, Polymer science. Series A, Chemistry, physics, 38 (1996) 1153-1157.
- [74] Kim, C., M.H. Morel, J.S. Beuve, S. Guilbert, A. Collet, and F. Bonfils, *Characterization of natural rubber using size-exclusion chromatography with online multi-angle light scattering*, Journal of Chromatography A, 1213 (2008) 181-188.
- [75] Allen, P.W., and G.M. Bristow, *The Gel Phase in Natural Rubber*. J. Appl. Polym. Sci., 7 (1963) 603-615.
- [76] Wisunthorn, S., S. Liengprayoon, L. Vaysse, J.S. Beuve, and F. Bonfils, *SEC-MALS study of dynamic structuring of Natural Rubber: Comparative study of two Hevea brasiliensis genotypes*, J. Appl. Polym. Sci., 124 (2012) 1570-1577.
- [77] Dubascoux, S., C. Thepchalerm, E. Dubreucq, S. Wisunthorn, L. Vaysse, S. Kiatkamjornwong, C. Nakason, and F. Bonfils, *Comparative study of the mesostructure of natural and synthetic polyisoprene by size exclusion chromatography-multi-angle light scattering and asymmetrical flow field flow fractionation-multi-angle light scattering*, Journal of Chromatography A, 1224 (2012) 27-26.
- [78] Makan, A.C., T. Otte, and H. Pasch, *Analysis of High Molar Mass Branched Polybutadienes by SEC-MALLS and AF4-MALLS*. Macromolecules, 45 (2012) 5247-5259.
- [79] Amnuaypornsi, S., J. Sakdapipanich, and Y. Tanaka, *Green Strength of Natural Rubber: The Origin of the Stress-Strain Behavior of Natural Rubber*. J. Appl. Polym. Sci., 111 (2009) 2127-2133.
- [80] Toki, S., C. Burger, B.S. Hsiao, S. Amnuaypornsi, J. Sakdapipanich, and Y. Tanaka, *Multi-Scaled Microstructures in Natural Rubber Characterized by Synchrotron X-Ray Scattering and Optical Microscopy*, Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, 46 (2008) 2456-2464.
- [81] Tarachiwin, L., J.T. Sakdapipanich, and Y. Tanaka, *Gel formation in Natural Rubber latex: 2. Effect of magnesium ion*. Rubber Chem. Technol., 76 (2003) 1185-1193.
- [82] Rippel, M.M., C.A.P. Leite, L.-T. Lee, and F. Galemberg, *Direct imaging and elemental mapping of microgels in natural rubber particles*, Colloid Polym. Sci., 283 (2005) 570-574.
- [83] Rippel, M.M., C.A.P. Leite, and F. Galembeck, *Elemental mapping in Natural Rubber latex films by electron Energy Loss Spectroscopy associated with Transmission Electron Microscopy*. Anal. Chem., 74 (2002) 2541-2546.
- [84] Grechanovskii, V.A., *Microgel, macrogel and insoluble fraction in elastomers*. International Polymer Science and Technology, 2 (1975) 112-114.
- [85] Lu, F.J., and S.L. Hsu, *A vibrational spectroscopic analysis of the structure of natural rubber*. Rubber Chem. Technol., 60 (1987) 647-658.

- [86] Gregg, E.C., and J.H. Macey, *The relationship of properties of synthetic poly(isoprene) and Natural Rubber in the factory. The effect of non-rubber constituents of Natural Rubber*. Rubber Chem. Technol., 46 (1973) 47-66.
- [87] Li, S.D., H.P. Yu, Z. Peng, and P.S. Li, *Study on Variation of Structure and Properties of Natural Rubber During Accelerated Storage*, J. Appl. Polym. Sci., 70 (1998) 1779-1783.
- [88] Gan, S.N., *Storage hardening of Natural Rubber*. Journal of Membrane Science, Pure Applied Chemistry, A33 (1996) 1939-1948.
- [89] Ngolemasango, F., E.E. Ehabe, C. Aymard, J. Sainte-Beuve, B. Nkouonkam, and F. Bonfils, *Role of short polyisoprene chains in storage hardening of natural rubber*, Polymer International, 52 (2003).
- [90] Amnuaypornsr, S., A. Nimpai boon, and J. Sakdapipanich, *Role of Phospholipids and Proteins on Gel Formation and Physical Properties of NR During Accelerated Storage*. Kaut. Gummi. Kunstst., 62 (2009) 88-92.
- [91] Subramaniam, A., *Natural Rubber*, in *Rubber Technology*, M. Morton, Editor. 1999, Kluwer Academic Publisher: Dordrecht, Netherland. p. 179-208.
- [92] Fuller, K.N.G., *Rheology of raw rubber*, in *Natural rubber science and technology*, A.D. Roberts, Editor. 1988: Oxford University Press, Oxford. p. 141-176.
- [93] Montes, S., and J.L. White, *A comparative rheological investigation of natural and synthetic cis-1,4 polyisoprenes and their carbon black compounds*. Rubber Chem. Technol., 55 (1982) 1354-1369.
- [94] Campbell, D.S., and K.N.G. Fuller, *Factors influencing the mechanical behavior of raw unfilled Natural Rubber*. Rubber Chem. Technol., 57 (1984) 104-117.
- [95] Bhowmick, A.K., J. Cho, A. MacArthur, D. McIntyre, *Influence of gel and molecular weight on the properties of natural rubber*, Polymer, 27 (1986) 1889-1894.
- [96] Ehabe, E.E., F. Bonfils, C. Aymard, A.K. Akinlabi, and J. Sainte-Beuve, *Modelling of Mooney viscosity relaxation in natural rubber*, Polym. Test., 24 (2005) 620-627.
- [97] Cantaloube, B., and S. Cocard, *Revisiting the rheological characterization of NR using a Mooney Viscometer*. Kautschuk Gummi Kunststoffe, 57 (2004) 168-171.
- [98] Bonfils, F., A. Flori, and J. Sainte-Beuve, *Relations Between Wallace Plasticity and Mw for Natural Rubber*. J. Appl. Polym. Sci., 74 (1999) 3078-3087.
- [99] Dick, J.S., C. Harmon, and A. Vare, *Quality assurance of natural rubber using the rubber process analyzer*. Polym. Test., 18 (1999) 327-362.
- [100] Konecny, P., M. Cerny, J. Voldanova, J. Malac, and J. Simonik, *Dynamic mechanical properties of filled styrene butadiene rubber compounds: comparison of tensile and shear data*, Polym. Adv. Technol., 18 (2007) 122-127.
- [101] Khimi, S.R., and K.L. Pickering, *A New Method to Predict Optimum Cure Time of Rubber Compound Using Dynamic Mechanical Analysis*. J. Appl. Polym. Sci., 131 (2013).
- [102] Suzuki, T., N. Osaka, H. Endo, M. Shibayama, Y. Ikeda, H. Asai, N. Higashitani, Y. Kokubo, and S. Kohjiya, *Nonuniformity in Cross-Linked Natural Rubber as Revealed by Contrast-Variation Small-Angle Neutron Scattering*, Macromolecules, 43 (2010) 1556-1563.
- [103] Kosugi, K. and S. Kawahara, *Natural rubber with nanomatrix of non-rubber components observed by focused ion beam-scanning electron microscopy*. Colloid Polym. Sci., 293 (2015) 135-141.

- [104] Toki, S., B.S. Hsiao, S. Amnuaypornsi, and J. Sakdapipanich, *New insights into the relationship between network structure and strain-induced crystallization in un-vulcanized and vulcanized natural rubber by synchrotron X-ray diffraction*, Polymer, 50 (2009) 2142-2148.
- [105] Kawahara, S., T. Kakubo, J.T. Sakdapipanich, Y. Isono, Y. Tanaka, *Characterization of fatty acids linked to natural rubber—role of linked fatty acids on crystallization of the rubber*, Polymer, 41 (2000) 7483-7488.
- [106] Kramer, O., and W.R. Good, *Correlating Mooney viscosity to average molecular weight*. J. Appl. Polym. Sci., 16 (1972) 2677-2684.
- [107] Ferry, J.D., ed. *Viscoelastic Properties of Polymers, 3rd Edition*. 3rd Edition ed. 1980: New York, USA. 672.
- [108] Ehabe, E.E., G.E. Nkeng, A. Collet, and F. Bonfils, *Relations Between High-Temperature Mastication and Mooney Viscosity Relaxation in Natural Rubber*, J. Appl. Polym. Sci., 113 (2009) 2785-2790.
- [109] Khamzin, A.A., R.R. Nigmatullin, and I.I. Popov, *Log-periodic corrections to the Cole–Cole expression in dielectric relaxation*. Physica A, 392 (2013) 136-148.
- [110] Grosse, C., *A program for the fitting of Debye, Cole–Cole, Cole–Davidson, and Havriliak–Negami dispersions to dielectric data*. Journal of Colloid and Interface Science, 419 (2014) 102-106.
- [111] Perez, J., J.Y. Cavaille, S. Etienne, and C. Jourdan, *Physical interpretation of the rheological behaviour of amorphous polymers through the glass transition*, Rev. Phys. Appl., 23 (1988) 125-135.
- [112] Nakajima, N., J.J. Scobbo, and E.R. Harrell, *Viscoelastic characterization of long branching and gel in elastomers by comparison of large and small deformation behavior*. Rubber Chem. Technol., 60 (1987) 742-760.
- [113] Nait-Ali, K.L., A. Bergeret, L. Ferry, and X. Colin, *Chain branching detection by Cole–Cole modeling of rheological properties changes during PET mechanical recycling*, Polym. Test., 31 (2012) 500-504.
- [114] Kim, C., A. Deratani, and F. Bonfils, *Determination of the refractive index increment of Natural and Synthetic poly(cis-1,4-isoprene) solutions and its effect on structural parameters*. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 33 (2010) 37-45.
- [115] Bandura, D.R., V.I. Baranov, and S.D. Tanner, *Detection of Ultratrace Phosphorus and Sulfur by Quadrupole ICPMS with Dynamic Reaction Cell*. Anal. Chem., 74 (2002) 1497-1502.
- [116] Flory, P.J., and J. Rehner, *Statistical Mechanics of Cross-Linked Polymer Networks II. Swelling*. J. Chem. Phys., 11 (1943) 521.
- [117] Rolere, S., S. Liengprayoon, L. Vaysse, J. Sainte-Beuve, F. Bonfils, *Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously*, Polym. Test., 43 (2015) 83-93.
- [118] Eng, A.H., Y. Tanaka, and S.N. Gan, *FTIR Studies on Amino Groups in purified hevea rubber*. Journal of natural rubber research, 7 (1992) 152-155.
- [119] Nallasamy, P., and S. Mohan, *Vibrational spectra of cis-1.4-polyisoprene*. Arab. J. Sci. Eng., 29 (2004) 17-26.
- [120] Dinsmore, H.L., and C. Don Smith, *Analysis of Natural and Synthetic Rubber by Infrared Spectroscopy*. Anal. Chem., 20 (1948) 11-24.

- [121] Haider, K.S., *Rubber Soul - The Investigation of Rubber by Vibrational Spectroscopy*. M.Sc. Thesis. Berlin University: Germany, 2012.
- [122] Yu, H., Z. Zeng, G. Lu, and Q. Wang, *Processing characteristics and thermal stabilities of gel and sol of epoxidized natural rubber*, Eur. Polym. J., 44 (2008) 453-464.
- [123] Kishore, K., and H.K. Pandey, *Spectral studies on plant rubbers*. Prog. Polym. Sci., 12 (1986) 155-178.
- [124] Barth, A., *Infrared spectroscopy of proteins*. Biochim. Biophys. Acta, 1767(9) (2007) 1073-1101.
- [125] Salaeh, S., and C. Nakason, *Influence of Modified Natural Rubber and Structure of Carbon Black on Properties of Natural Rubber Compounds*. Polym. Composite., 33 (2012) 489-500.
- [126] Minkoff, G.J., *The infra-red absorption spectra of organic peroxides*. Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences, 224 (1954) 176-191.
- [127] Mistry, B.D., ed. *A Handbook of Spectroscopic Data: Chemistry*. 2009, Oxford Book Company: Jaipur, India. 242.
- [128] Musigamart, N., *Study of the role of lipids from maturated coagula from Hevea brasiliensis latex on natural rubber behavior in oxidative conditions*. 2015, Montpellier SupAgro (France) & Kasetsart University (Thaïlande): Montpellier, France.
- [129] Menard, K.P., ed. *Dynamic mechanical analysis : a practical introduction*. 1 ed. 1999, CRC Press: Boca Raton, Florida. 205.
- [130] Kehlet, C., A. Catalano, and J. Dittmer, *Degradation of natural rubber in works of art studied by unilateral NMR and high field NMR spectroscopy*. Polymer Degradation and Stability, 107 (2014) 270-276.
- [131] Kawahara, S., O. Chaikumpollert, S. Sakurai, Y. Yamamoto, and K. Akabori, *Crosslinking junctions of vulcanized natural rubber analyzed by solid-state NMR spectroscopy equipped with field-gradient-magic angle spinning probe*, Polymer, 50 (2009) 1626-1631.
- [132] Leblanc, J.L., J.F. Pilard, E. Pianhanuruk, I. Campistron, and J.Y. Buzare, *Characterizing Gum Natural Rubber Samples Through Advanced Techniques*, J. Appl. Polym. Sci., 119 (2011) 3058-3071.
- [133] Somers, A.E., T.J. Bastow, M.I. Bugar, M. Forsyth, and A.J. Hill, *Quantifying rubber degradation using NMR*, Polymer Degradation and Stability, 70 (2000) 31-37.
- [134] Larsen, F.H., T. Rasmussen, W.B. Pedersen, N.C. Nielsen, and H.J. Jakobsen, *Observation of immobile regions in natural rubber at ambient temperature by solid-state ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy*, Polymer, 40 (1999) 7013-7017.
- [135] Sacchi, R., I. Medina, S.P. Aubourg, I. Giudicianni, L. Paolillo, and F. Addeo, *Quantitative High-Resolution ¹³C NMR Analysis of Lipids Extracted from the White Muscle of Atlantic Tuna (Thunnus alalunga)*, J. Agric. Food Chem., 41 (1993) 1247-1253.
- [136] Guo, W., and J.A. Hamilton, *¹³C MAS NMR studies of crystalline cholesterol and lipid mixtures modeling atherosclerotic plaques*, Biophysical Journal, 71 (1996) 2857-2868..
- [137] Bristow, G.M., and W.F. Watson, *Cohesive energy densities of polymers - Part. 2. Cohesive energy densities from viscosity measurements*. Trans. Faraday Soc., 54 (1958) 1742-1747.

DOCUMENTS ANNEXES

| | |
|---|------|
| Tableau A-1. Taux de gels mesurés pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT..... | II |
| Tableau A-2. Structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 μm (Microgel _{<1μ}), évaluée par SEC-MALS en mode TBABr, pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes du projet CANAOPT..... | III |
| Tableau A-3. Structure des chaînes macromoléculaires de poly(<i>cis</i> -1,4-isoprène), évaluée par SEC-MALS en mode TBABr, pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes du projet CANAOPT..... | IV |
| Tableau A-4. Propriétés rhéologiques de 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT, mesurées par DMTA en double cisaillement (100°C ; 0,01-50 Hz ; $\epsilon = 2\%$)..... | V |
| Tableau A-5. Coefficients de détermination R^2 des régressions linéaires réalisées entre les propriétés rhéologiques à 0,01 Hz et 22 Hz mesurées à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes des pelotes statistiques estimées par SEC-MALS en mode TBABr, pour chacun des grades étudiés..... | VI |
| Tableau A-6. Valeurs du paramètre K' décrit par le modèle de Perez, déterminées graphiquement à partir des courbes Cole-Cole ($G''=f(G')$), pour 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT..... | VII |
| Publications et communications | VIII |

Tableau A-1. Taux de gels mesurés pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT.

| Gomme | Clone | Gel total (% m/m) | Gel _{>1μ} (% m/m) | Microgel _{<1μ} (% m/m) | Macrogel (% m/m) |
|----------------|---------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------|
| CA 10 CI P01 | GT1 | 32,4 (5%) d,e,f,g,h | 24,3 (10%) c,d,e | 8,0 (11%) f,g,h,i | 3,8 (21%) f |
| CA 10 CI P11 | GT1 | 40,2 (5%) a,b,c,d | 31,4 (8%) a,b,c | 8,7 (8%) c,d,e,f,g,h,i | 7,7 (4%) d,e |
| CA 10 CI P16 | GT1 | 45,1 (2%) a | 37,1 (0%) a | 7,9 (11%) f,g,h,i | 16,8 (9%) b |
| CA 10 CI P18 | GT1 | 37,7 (0%) a,b,c,d,e,f | 31,6 (1%) a,b,c | 6,1 (9%) i | 4,5 (11%) e,f |
| CA 10 CI P21 | GT1 | 42,7 (0%) a,b,c | 34,8 (2%) a,b | 7,9 (4%) e,f,g,h,i | 14,6 (9%) b,c |
| CA 10 VN P01 | GT1 | 43,1 (2%) a | 34,5 (2%) a,b | 8,5 (8%) c,d,e,f,g,h,i | 21,7 (16%) a |
| CA 10 CI P08 | PB235 | 30,6 (6%) f,g,h,i | 21,1 (10%) d,e,f | 9,4 (7%) b,c,d,e,f,g,h | 3,2 (14%) f |
| CA 10 CI P17 | PB235 | 28,7 (14%) g,h,i | 22,5 (20%) c,d,e,f | 6,2 (9%) i | 3,7 (9%) f |
| CA 10 VN P03 | PB235 | 40,4 (6%) a,b,c,d,e | 29,2 (8%) a,b,c,d | 11,2 (0%) a,b,c | 10,3 (9%) c,d |
| CA 10 TH P01 | RRIM600 | 43,7 (0%) a,b,c | 36,8 (0%) a,b | 6,9 (4%) h,i | 23,5 (4%) a |
| CA 10 TH P03 | RRIM600 | 42,9 (4%) a,b | 36,3 (4%) a,b | 6,6 (7%) i | 21,8 (3%) a |
| CA 10CV CI P03 | GT1 | 32,1 (6%) e,f,g,h,i | 23,7 (8%) c,d,e | 8,4 (4%) d,e,f,g,h,i | 4,0 (5%) f |
| CA 10CV CI P04 | GT1 | 31,0 (1%) f,g,h,i | 23,6 (2%) c,d,e | 7,4 (11%) g,h,i | 4,6 (14%) e,f |
| CA 10CV CI P13 | GT1 | 37,3 (8%) a,b,c,d,e,f | 27,7 (10%) b,c,d | 9,5 (6%) b,c,d,e,f,g,h | 5,3 (17%) e,f |
| CA 10CV VN P02 | GT1 | 32,6 (5%) d,e,f,g,h | 21,0 (8%) d,e,f | 11,5 (1%) a,b | 4,3 (5%) f |
| CA 10CV CI P10 | PB235 | 31,2 (5%) f,g,h,i | 19,4 (5%) d,e,f | 11,8 (7%) a,b | 13,1 (5%) c |
| CA 10CV VN P04 | PB235 | 26,2 (12%) h,i | 13,5 (32%) f | 12,7 (8%) a | 3,3 (38%) f |
| CA 3CV VN P03 | GT1 | 32,9 (12%) d,e,f,g,h | 22,6 (25%) c,d,e,f | 10,3 (14%) a,b,c,d,e,f | 4,5 (15%) e,f |
| CA 3CV VN P10 | GT1 | 27,7 (2%) g,h,i | 17,9 (3%) e,f | 9,7 (0%) b,c,d,e,f,g | 4,6 (9%) e,f |
| CA 3CV VN P02 | PB235 | 30,0 (13%) f,g,h,i | 17,5 (30%) e,f | 12,5 (11%) a | 2,4 (13%) e,f |
| CA 3CV VN P09 | PB235 | 24,3 (2%) i | 16,9 (8%) e,f | 7,4 (9%) g,h,i | 4,8 (25%) e,f |
| CA 3CV TH P01 | RRIM600 | 32,2 (3%) d,e,f,g,h,i | 24,6 (3%) c,d,e | 7,6 (7%) g,h,i | 5,7 (12%) e,f |
| CA 3CV TH P02 | RRIM600 | 30,1 (18%) f,g,h,i | 23,6 (25%) c,d,e | 6,4 (10%) i | 5,1 (10%) e,f |
| CA 3CV TH P05 | RRIT251 | 35,0 (6%) b,c,d,e,f,g | 24,3 (9%) c,d,e | 10,7 (3%) a,b,c,d | 3,7 (11%) f |
| CA 3CV TH P06 | RRIT251 | 34,8 (3%) c,d,e,f,g | 24,2 (2%) c,d,e | 10,6 (6%) a,b,c,d,e | 4,3 (3%) f |

- o Gel total (%) = Gel_{>1μ} + Microgel_{<1μ} (%).
- o Gel_{>1μ} (%) = Macrogel (%) + Microgel_{>1μ} (%).
- o Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- o Les échantillons ne présentant pas de lettre commune sont significativement différents ($\alpha = 0,05$).

Tableau A-2. Structure des microagrégats de tailles inférieures à 1 µm (Microgel_{<1µm}), évaluée par SEC-MALS en mode TBABr, pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes du projet CANAOPT.

| Gomme | Clone | M _n (kg/mol) | | | M _w (kg/mol) | | | I | | R _g (nm) | | | d _{app} (kg/m ³) | | |
|----------------|---------|-------------------------|-------|-----------|-------------------------|-------|-------------|------|------|---------------------|------|-------------|---------------------------------------|-------|-------------|
| CA 10 CI P01 | GT1 | 1878 | (8%) | c | 1964 | (8%) | d | 1,04 | (2%) | 92,7 | (3%) | d,e, f,g | 0,93 | (10%) | d,e, f |
| CA 10 CI P11 | GT1 | 1928 | (8%) | c | 1988 | (9%) | D | 1,03 | (1%) | 89,3 | (0%) | e,f, g,h | 1,07 | (8%) | b,c, d,e |
| CA 10 CI P16 | GT1 | 2024 | (4%) | b,c | 2060 | (5%) | c,d | 1,01 | (1%) | 95,1 | (0%) | c,d, e,f | 0,93 | (3%) | d,e, f |
| CA 10 CI P18 | GT1 | 2002 | (5%) | b,c | 2091 | (6%) | b,c, d | 1,04 | (1%) | 93,5 | (2%) | d,e, f,g | 0,97 | (3%) | c,d, e,f |
| CA 10 CI P21 | GT1 | 2098 | (3%) | b,c | 2162 | (1%) | b,c, d | 1,03 | (1%) | 94,4 | (2%) | c,d, e,f | 0,98 | (4%) | c,d, e,f |
| CA 10 VN P01 | GT1 | 1911 | (7%) | c | 1973 | (7%) | d | 1,03 | (0%) | 92,5 | (3%) | d,e, f,g | 0,96 | (16%) | d,e, f |
| CA 10 CI P08 | PB235 | 2193 | (8%) | b,c | 2263 | (9%) | b,c, d | 1,03 | (2%) | 99,3 | (2%) | c,d | 0,89 | (13%) | d,e, f |
| CA 10 CI P17 | PB235 | 2179 | (4%) | b,c | 2280 | (6%) | b,c, d | 1,04 | (1%) | 100 | (2%) | b,c, d | 0,86 | (9%) | d,e, f |
| CA 10 VN P03 | PB235 | 2139 | (6%) | b,c | 2196 | (5%) | b,c, d | 1,02 | (0%) | 96,5 | (0%) | c,d, e | 0,94 | (8%) | c,d, e,f |
| CA 10 TH P01 | RRIM600 | 2123 | (3%) | b,c | 2167 | (3%) | b,c, d | 1,02 | (0%) | 98,7 | (1%) | c,d | 0,87 | (0%) | d,e, f |
| CA 10 TH P03 | RRIM600 | 2154 | (9%) | b,c | 2230 | (9%) | b,c, d | 1,03 | (0%) | 93,8 | (2%) | d,e, f | 1,03 | (3%) | c,d, e,f |
| CA 10CV CI P03 | GT1 | 2265 | (11%) | b,c | 2325 | (11%) | b,c, d | 1,02 | (0%) | 99,3 | (2%) | c,d | 0,91 | (6%) | d,e, f |
| CA 10CV CI P04 | GT1 | 2330 | (0%) | b,c | 2456 | (2%) | a,b, c,d | 1,05 | (2%) | 94,2 | (3%) | d,e, f | 1,10 | (9%) | a,b, c,d |
| CA 10CV CI P13 | GT1 | 2063 | (0%) | b,c | 2163 | (2%) | b,c, d | 1,04 | (3%) | 87,1 | (3%) | f,g, h | 1,24 | (11%) | a,b, c |
| CA 10CV VN P02 | GT1 | 2035 | (2%) | b,c | 2137 | (1%) | b,c, d | 1,05 | (0%) | 84,0 | (1%) | h | 1,36 | (5%) | a |
| CA 10CV CI P10 | PB235 | 2201 | (6%) | b,c | 2279 | (6%) | b,c, d | 1,03 | (0%) | 95,2 | (1%) | c,d, e | 1,00 | (1%) | c,d, e,f |
| CA 10CV VN P04 | PB235 | 2056 | (3%) | b,c | 2205 | (4%) | b,c, d | 1,07 | (1%) | 85,0 | (4%) | g,h | 1,33 | (10%) | a,b |
| CA 3CV VN P03 | GT1 | 2310 | (11%) | b,c | 2392 | (12%) | a,b, c,d | 1,03 | (0%) | 103 | (2%) | b,c | 0,83 | (9%) | d,e, f |
| CA 3CV VN P10 | GT1 | 2357 | (4%) | a,b, c | 2461 | (5%) | a,b, c,d | 1,04 | (0%) | 98,5 | (2%) | c,d | 0,97 | (3%) | c,d, e,f |
| CA 3CV VN P02 | PB235 | 2230 | (5%) | b,c | 2292 | (6%) | b,c, d | 1,02 | (0%) | 96,9 | (0%) | c,d, e | 0,97 | (4%) | c,d, e,f |
| CA 3CV VN P09 | PB235 | 2498 | (1%) | a,b | 2649 | (3%) | a,b | 1,06 | (1%) | 99,2 | (3%) | c,d | 1,01 | (11%) | c,d, e,f |
| CA 3CV TH P01 | RRIM600 | 2094 | (6%) | b,c | 2199 | (5%) | b,c, d | 1,05 | (1%) | 100 | (3%) | b,c, d | 0,82 | (10%) | e,f |
| CA 3CV TH P02 | RRIM600 | 2080 | (11%) | b,c | 2180 | (10%) | b,c, d | 1,04 | (0%) | 98,2 | (3%) | c,d | 0,86 | (9%) | d,e, f |
| CA 3CV TH P05 | RRIT251 | 2823 | (5%) | a | 2877 | (5%) | a | 1,01 | (0%) | 112 | (1%) | a | 0,79 | (1%) | f |
| CA 3CV TH P06 | RRIT251 | 2500 | (7%) | a,b | 2577 | (7%) | a,b, c | 1,03 | (0%) | 108 | (2%) | a,b | 0,78 | (6%) | f |

- Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les échantillons ne présentant pas de lettre commune sont significativement différents ($\alpha = 0,05$).

Tableau A-3. Structure des chaînes macromoléculaires de poly(*cis*-1,4-isoprène), évaluée par SEC-MALS en mode TBABr, pour des plaques laminées préparées à partir de 25 gommes du projet CANAOPT.

| Gomme | Clone | M _n (kg/mol) | | M _w (kg/mol) | | M _z (kg/mol) | | I | | R _g (nm) | |
|----------------|---------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|------|------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
| CA 10 CI P01 | GT1 | 535 | (5%) b,c,d, e,f | 1055 | (3%) d,e, f,g | 1608 | (5%) | 1,97 | (6%) c,d, e | 84,9 | (2%) b,c, d,e |
| CA 10 CI P11 | GT1 | 478 | (4%) e,f | 916 | (4%) g,h, i | 1422 | (7%) | 1,91 | (8%) c,d, e | 79,9 | (0%) e,f, g |
| CA 10 CI P16 | GT1 | 598 | (5%) a,b,c, d,e | 1101 | (3%) c,d, e,f | 1628 | (3%) | 1,84 | (3%) c,d, e | 85,9 | (1%) b,c, d |
| CA 10 CI P18 | GT1 | 560 | (3%) a,b,c, d,e,f | 1128 | (5%) b,c,d, e,f | 1754 | (4%) | 2,01 | (0%) a,b,c, d,e | 88,2 | (2%) a,b, c |
| CA 10 CI P21 | GT1 | 595 | (16%) a,b,c, d,e,f | 1075 | (2%) c,d,e, f,g | 1601 | (4%) | 1,80 | (0%) c,d, e | 84,0 | (1%) b,c,d, e,f |
| CA 10 VN P01 | GT1 | 521 | (5%) c,d, e,f | 997 | (5%) f,g, h | 1457 | (3%) | 1,93 | (10%) c,d, e | 79,2 | (2%) f,g |
| CA 10 CI P08 | PB235 | 740 | (16%) a | 1175 | (2%) b,c, d | 1628 | (2%) | 1,58 | (3%) e | 85,7 | (1%) b,c, d |
| CA 10 CI P17 | PB235 | 708 | (3%) a,b, c | 1240 | (5%) a,b, c | 1783 | (1%) | 1,77 | (10%) c,d, e | 88,7 | (1%) a,b |
| CA 10 VN P03 | PB235 | 739 | (6%) a,b | 1140 | (1%) b,c,d, e,f | 1551 | (0%) | 1,54 | (2%) d,e | 81,7 | (1%) c,d,e, f,g |
| CA 10 TH P01 | RRIM600 | 578 | (2%) a,b,c, d,e,f | 1073 | (1%) c,d,e, f,g | 1596 | (0%) | 1,86 | (4%) c,d, e | 84,2 | (0%) b,c,d, e,f |
| CA 10 TH P03 | RRIM600 | 521 | (10%) c,d, e,f | 1016 | (3%) e,f, g | 1574 | (5%) | 1,94 | (1%) c,d, e | 82,4 | (0%) c,d, e,f |
| CA 10CV CI P03 | GT1 | 583 | (11%) a,b,c, d,e | 1163 | (2%) b,c, d,e | 1812 | (3%) | 2,00 | (8%) c,d, e | 89,8 | (1%) a,b |
| CA 10CV CI P04 | GT1 | 459 | (2%) e,f | 1042 | (3%) d,e, f,g | 1680 | (3%) | 2,28 | (10%) a,b, c | 84,6 | (2%) b,c, d,e |
| CA 10CV CI P13 | GT1 | 386 | (10%) f | 858 | (6%) h,i, j | 1392 | (5%) | 2,21 | (5%) a,b, c,d | 76,0 | (3%) g |
| CA 10CV VN P02 | GT1 | 505 | (16%) d,e,f | 809 | (3%) i,j | 1152 | (4%) | 1,60 | (8%) e | 68,7 | (4%) h |
| CA 10CV CI P10 | PB235 | 565 | (5%) a,b,c, d,e,f | 982 | (7%) f,g, h | 1437 | (4%) | 1,75 | (9%) c,d, e | 79,2 | (0%) f,g |
| CA 10CV VN P04 | PB235 | 476 | (5%) e,f | 759 | (2%) j | 1077 | (0%) | 1,59 | (3%) e | 66,1 | (3%) h |
| CA 3CV VN P03 | GT1 | 611 | (12%) a,b,c, d,e | 1236 | (5%) a,b, c | 1876 | (7%) | 2,02 | (3%) b,c, d,e | 92,3 | (1%) a |
| CA 3CV VN P10 | GT1 | 456 | (3%) e,f | 1027 | (3%) d,e, f,g | 1636 | (4%) | 2,27 | (10%) a,b, c | 82,4 | (0%) c,d, e,f |
| CA 3CV VN P02 | PB235 | 675 | (6%) a,b, c,d | 1100 | (2%) c,d, e,f | 1608 | (5%) | 1,62 | (1%) d,e | 81,7 | (0%) d,e, f |
| CA 3CV VN P09 | PB235 | 530 | (8%) b,c,d, e,f | 1016 | (1%) e,f, g | 1560 | (3%) | 1,92 | (6%) c,d, e | 80,8 | (2%) d,e, f,g |
| CA 3CV TH P01 | RRIM600 | 440 | (33%) e,f | 1172 | (1%) b,c, d | 1951 | (1%) | 2,67 | (9%) a | 93,6 | (0%) a |
| CA 3CV TH P02 | RRIM600 | 472 | (11%) e,f | 1173 | (11%) b,c, d | 1919 | (7%) | 2,61 | (23%) a,b | 92,8 | (2%) a |
| CA 3CV TH P05 | RRIT251 | 734 | (5%) a | 1341 | (2%) a | 1968 | (2%) | 1,84 | (10%) c,d, e | 92,1 | (0%) a |
| CA 3CV TH P06 | RRIT251 | 588 | (5%) a,b,c, d,e | 1288 | (3%) a,b | 1975 | (6%) | 2,19 | (6%) a,b,c, d,e | 92,1 | (2%) a |

- Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les échantillons ne présentant pas de lettre commune sont significativement différents ($\alpha = 0,05$).

Tableau A-4. Propriétés rhéologiques de 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT, mesurées par DMTA en double cisaillement (100°C ; 0,01-50 Hz ; $\varepsilon = 2\%$).

| Gomme | G'0,01Hz (kPa) | G'22Hz (kPa) | G''0,01Hz (kPa) | G''22Hz (kPa) | G'' max (kPa) | f(G'' max) (Hz) | tanδ0,01Hz | tanδ22Hz |
|-------------|------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|--------------------|------------------|
| CA10CIP01 | 136 (7%) d,e,f | 550 (4%) b,c,d,e,f,g,h | 67,7 (5%) e,f,g,h,i,j | 87,9 (4%) d,e,f | 92,2 (4%) e,f,g,h,i,j | 3,50 (15%) d,e,f | 0,498 (1%) f,g,h | 0,160 (0%) g,h |
| CA10CIP11 | 109 (3%) g,h,i | 502 (2%) h,i | 54,9 (2%) l,m,n | 90,9 (2%) a,b,c,d,e | 93,1 (1%) e,f,g,h,i,j | 6,29 (11%) c | 0,504 (1%) f,g | 0,181 (2%) c,d |
| CA10CIP16 | 188 (10%) a | 610 (8%) a | 77,0 (8%) a,b,c,d | 83,6 (9%) e,f,g,h,i | 91,6 (8%) e,f,g,h,i,j | 1,23 (20%) g,h,i,j | 0,410 (2%) k | 0,137 (1%) j,k,l |
| CA10CIP18 | 149 (9%) b,c,d,e | 563 (4%) a,b,c,d,e,f,g | 68,6 (5%) d,e,f,g,h,i | 89,6 (2%) c,d,e,f | 93,8 (2%) e,f,g,h,i,j | 3,98 (5%) d,e | 0,462 (4%) h,i,j | 0,159 (2%) g,h |
| CA10CIP21 | 170 (2%) a,b | 591 (1%) a,b,c,d | 73,9 (2%) b,c,d,e | 83,7 (1%) e,f,g,h,i | 92,1 (1%) e,f,g,h,i,j | 1,20 (8%) h,i,j | 0,435 (1%) j,k | 0,142 (1%) i,j |
| CA10VNP01 | 150 (5%) b,c,d | 583 (3%) a,b,c,d,e | 72,3 (4%) b,c,d,e,f | 81,8 (2%) e,f,g,h,i,j | 95,4 (3%) c,d,e,f,g,h,i | 0,63 (9%) i,j | 0,482 (1%) f,g,h,i | 0,140 (1%) i,j,k |
| CA10CIP08 | 138 (1%) c,d,e,f | 598 (2%) a,b,c | 79,5 (1%) a,b | 77,3 (6%) h,i,j | 103 (4%) a,b,c,d | 0,30 (23%) j | 0,576 (1%) e | 0,129 (3%) k,l,m |
| CA10CIP17 | 159 (1%) b,c,d | 601 (2%) a,b | 82,9 (1%) a | 74,2 (3%) j | 98,3 (2%) b,c,d,e,f,g,h | 0,20 (5%) j | 0,522 (2%) f | 0,124 (1%) m |
| CA10VNP03 | 154 (3%) b,c,d | 598 (2%) a,b,c | 78,5 (1%) a,b,c | 75,5 (4%) i,j | 98,6 (3%) b,c,d,e,f,g | 0,25 (14%) j | 0,511 (2%) f,g | 0,126 (2%) l,m |
| CA10THP01 | 172 (2%) a,b | 576 (3%) a,b,c,d,e,f | 70,9 (2%) c,d,e,f,g | 82,1 (3%) e,f,g,h,i,j | 89,2 (3%) h,i,j | 1,59 (12%) f,g,h,i,j | 0,413 (1%) k | 0,142 (1%) i,j |
| CA10THP03 | 138 (3%) c,d,e,f | 524 (1%) f,g,h,i | 61,6 (1%) h,i,j,k,l | 82,9 (3%) e,f,g,h,i,j | 87,7 (2%) i,j | 3,00 (5%) e,f,g,h | 0,446 (2%) i,j,k | 0,158 (1%) g,h |
| CA10CVCIP03 | 141 (4%) c,d,e,f | 553 (2%) b,c,d,e,f,g,h | 69,1 (3%) d,e,f,g,h | 86,6 (2%) d,e,f,g | 91,1 (2%) f,g,h,i,j | 3,22 (7%) e,f,g | 0,489 (1%) f,g,h | 0,157 (1%) g,h |
| CA10CVCIP04 | 120 (4%) f,g,h | 523 (1%) f,g,h,i | 62,4 (2%) g,h,i,j,k,l | 90,7 (0%) a,b,c,d,e | 92,9 (0%) e,f,g,h,i,j | 7,14 (5%) c | 0,520 (3%) f | 0,173 (0%) d,e |
| CA10CVCIP13 | 85,5 (11%) i,j | 485 (3%) i | 49,3 (7%) n | 99,4 (1%) a | 100 (1%) a,b,c,d,e,f | 11,9 (23%) b | 0,579 (5%) e | 0,205 (5%) a |
| CA10CVVNP02 | 80,8 (6%) j,k | 529 (4%) e,f,g,h,i | 53,1 (4%) m,n | 99,2 (3%) a,b | 106 (3%) a,b | 2,80 (4%) e,f,g,h | 0,657 (1%) c,d | 0,188 (1%) b,c |
| CA10CVCIP10 | 96,7 (5%) h,i,j | 542 (2%) c,d,e,f,g,h,i | 62,6 (3%) g,h,i,j,k,l | 87,5 (2%) d,e,f | 101 (2%= a,b,c,d,e | 1,20 (11%) h,i,j | 0,647 (2%) d | 0,162 (2%) f,g,h |
| CA10CVVNP04 | 60,8 (3%) k | 509 (3%) g,h,i | 47,2 (4%) n | 98,5 (4%) a,b,c | 108 (4%) a | 2,40 (3%) e,f,g,h,i | 0,776 (1%) a | 0,194 (0%) b |
| CA3CVVNP03 | 109 (0%) g,h,i | 524 (1%) f,g,h,i | 64,8 (1%) f,g,h,i,j,k | 89,7 (2%) c,d,e,f | 91,8 (2%) e,f,g,h,i,j | 5,51 (10%) c,d | 0,596 (1%) e | 0,171 (1%) d,e,f |
| CA3CVVNP10 | 86,4 (7%) i,j | 523 (4%) f,g,h,i | 59,2 (5%) j,k,l,m | 94,4 (4%) a,b,c,d | 98,7 (4%) b,c,d,e,f,g | 3,00 (13%) e,f,g,h | 0,685 (2%) c,d | 0,181 (1%) c,d |
| CA3CVVNP02 | 93,5 (13%) i,j | 545 (3%) b,c,d,e,f,g,h | 64,5 (8%) f,g,h,i,j,k | 82,4 (4%) e,f,g,h,i,j | 102 (1%) a,b,c,d | 0,65 (34%) i,j | 0,692 (5%) b,c | 0,151 (6%) h,i |
| CA3CVVNP09 | 83,5 (8%) j,k | 537 (4%) d,e,f,g,h,i | 60,8 (6%) h,i,j,k,l,m | 90,2 (4%) b,c,d,e | 103 (4%) a,b,c | 1,10 (7%) h,i,j | 0,729 (2%) b | 0,168 (1%) e,f,g |
| CA3CVTHP01 | 122 (9%) f,g | 486 (4%) i | 58,9 (6%) k,l,m | 86,1 (1%) d,e,f,g,h | 87,0 (1%) i,j | 14,7 (5%) a | 0,485 (4%) f,g,h,i | 0,177 (1%) d,e,f |
| CA3CVTHP02 | 126 (4%) e,f,g | 488 (1%) i | 60,5 (2%) i,j,k,l,m | 83,8 (1%) e,f,g,h,i | 84,9 (1%) j | 12,7 (5%) a,b | 0,479 (2%) g,h,i | 0,172 (2%) d,e,f |
| CA3CVTHP05 | 154 (4%) b,c,d | 597 (1%) a,b,c | 80,0 (4%) a,b | 77,7 (5%) g,h,i,j | 97,2 (4%) c,d,e,f,g,h | 0,27 (13%) j | 0,520 (1%) f | 0,130 (1%) k,l,m |
| CA3CVTHP06 | 160 (5%) b,c | 575 (3%) a,b,c,d,e,f | 76,4 (4%) a,b,c,d | 80,7 (3%) f,g,h,i,j | 89,6 (3%) g,h,i,j | 0,60 (5%) i,j | 0,479 (1%) g,h,i | 0,140 (0%) i,j,k |

- Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les échantillons ne présentant pas de lettre commune sont significativement différents ($\alpha = 0,05$).

Tableau A-5. Coefficients de détermination R^2 des régressions linéaires réalisées entre les propriétés rhéologiques à 0,01 Hz et 22 Hz mesurées à 100°C et à faible déformation ($\epsilon = 2\%$, domaine linéaire), avec les masses molaires moyennes des pelotes statistiques estimées par SEC-MALS en mode TBABr, pour chacun des grades étudiés.

| | TSR10 | TSR10CV | TSR3CV |
|---|----------------|----------------|----------------|
| $G'_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,038 (0,5643) | 0,213 (0,3575) | 0,112 (0,4184) |
| $G'_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,172 (0,2043) | 0,960 (0,0006) | 0,841 (0,0013) |
| $G'_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,137 (0,2618) | 0,945 (0,0011) | 0,794 (0,0030) |
| $G'_{22 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,450 (0,0239) | 0,915 (0,0028) | 0,668 (0,0132) |
| $G'_{22 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,521 (0,0121) | 0,441 (0,1503) | 0,227 (0,2328) |
| $G'_{22 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,166 (0,2131) | 0,222 (0,3459) | 0,005 (0,8710) |
| $G''_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,666 (0,0022) | 0,509 (0,1113) | 0,593 (0,0253) |
| $G''_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,733 (0,0008) | 0,921 (0,0024) | 0,652 (0,0153) |
| $G''_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,271 (0,1003) | 0,761 (0,0234) | 0,249 (0,2085) |
| $G''_{22 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,666 (0,0022) | 0,536 (0,0983) | 0,397 (0,0941) |
| $G''_{22 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,477 (0,0187) | 0,816 (0,0135) | 0,558 (0,0331) |
| $G''_{22 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,069 (0,4335) | 0,640 (0,0560) | 0,326 (0,1390) |
| $\tan\delta_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,381 (0,0430) | 0,012 (0,8368) | 0,004 (0,8817) |
| $\tan\delta_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,128 (0,2806) | 0,716 (0,0338) | 0,597 (0,0246) |
| $\tan\delta_{0,01 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,003 (0,8772) | 0,855 (0,0083) | 0,930 (0,0001) |
| $\tan\delta_{22 \text{ Hz}} = f(M_n)$ | 0,631 (0,0035) | 0,768 (0,0221) | 0,708 (0,0088) |
| $\tan\delta_{22 \text{ Hz}} = f(M_w)$ | 0,592 (0,0057) | 0,695 (0,0392) | 0,449 (0,0689) |
| $\tan\delta_{22 \text{ Hz}} = f(M_z)$ | 0,142 (0,2536) | 0,464 (0,1365) | 0,102 (0,4396) |

- Les valeurs entre parenthèses correspondent aux valeurs-p calculées selon le test de Fisher.

Tableau A-6. Valeurs du paramètre K' décrit par le modèle de Perez, déterminées graphiquement à partir des courbes Cole-Cole ($G''=f(G')$), pour 25 gommes de caoutchouc naturel issues du projet CANAOPT.

| Gomme | Clone | Paramètre K' |
|----------------|---------|-----------------------|
| CA 10 CI P01 | GT1 | 0,446 (0%) i |
| CA 10 CI P11 | GT1 | 0,404 (1%) l |
| CA 10 CI P16 | GT1 | 0,430 (1%) j |
| CA 10 CI P18 | GT1 | 0,430 (1%) j |
| CA 10 CI P21 | GT1 | 0,426 (0%) j |
| CA 10 VN P01 | GT1 | 0,426 (0%) j |
| CA 10 CI P08 | PB235 | 0,479 (0%) b, c, d, e |
| CA 10 CI P17 | PB235 | 0,477 (0%) c, d, e |
| CA 10 VN P03 | PB235 | 0,451 (1%) i |
| CA 10 TH P01 | RRIM600 | 0,412 (2%) k, l |
| CA 10 TH P03 | RRIM600 | 0,404 (1%) l |
| CA 10CV CI P03 | GT1 | 0,449 (0%) i |
| CA 10CV CI P04 | GT1 | 0,446 (0%) i |
| CA 10CV CI P13 | GT1 | 0,421 (2%) j, k |
| CA 10CV VN P02 | GT1 | 0,452 (0%) i |
| CA 10CV CI P10 | PB235 | 0,473 (0%) d, e, f |
| CA 10CV VN P04 | PB235 | 0,483 (0%) b, c, d |
| CA 3CV VN P03 | GT1 | 0,480 (1%) b, c, d, e |
| CA 3CV VN P10 | GT1 | 0,486 (0%) a, b, c |
| CA 3CV VN P02 | PB235 | 0,488 (0%) a, b |
| CA 3CV VN P09 | PB235 | 0,497 (1%) a |
| CA 3CV TH P01 | RRIM600 | 0,456 (1%) h, i |
| CA 3CV TH P02 | RRIM600 | 0,462 (0%) g, h |
| CA 3CV TH P05 | RRIT251 | 0,469 (0%) e, f, g |
| CA 3CV TH P06 | RRIT251 | 0,466 (0%) f, g, h |

- Les pourcentages présentés (%) correspondent aux coefficients de variation obtenus à partir de trois mesures indépendantes.
- Les échantillons ne présentant pas de lettre commune sont significativement différents ($\alpha = 0,05$).

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Articles scientifiques :

Rolere, S., S. Liengprayoon, L. Vaysse, J. Sainte-Beuve, and F. Bonfils, *Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously*, Polym. Test., 43 (2015) 83-93.

Rolere, S., C. Char, J.M. Taulemesse, A. Bergeret, J. Sainte-Beuve, and F. Bonfils, *The majority of minerals present in Natural Rubber are associated with the macrogel: an ICP-MS and SEM/EDX investigation*, Journal of Applied Polymer Science (acceptée).

Communications :

Rolere, S., S. Liengprayoon, L. Vaysse, J. Sainte-Beuve, and F. Bonfils (2015, June 29th), *Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy* (Poster presentation). International Rubber Conference (IRC) 2015, Nuremberg, Germany.